

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIDAD DE POSGRADO

**“EFECTO DEL INJERTO OSEO HUMANO
LIOFILIZADO PARTICULADO
MINERALIZADO Y MEMBRANA
AMNIOTICA HUMANA LIOFILIZADA EN
LA REGENERACION OSEA EN TIBIAS DE
CONEJOS”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Estomatología

AUTOR

Frank Michael Paredes Nomberto

ASESOR

Victor Lévano Torres

Lima - Perú

2015

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, fuente de apoyo constante e incondicional en toda mi vida y más aun en mis duros años de carrera profesional y en especial quiero expresar mi mas grande agradecimiento a mis padres que sin su ayuda hubiera sido imposible culminar esta nuevo objetivo.

A mi Asesor. El Mg. Victor Lévano Torres, docente del departamento de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su asesoramiento, ayuda y confianza durante el proceso de la elaboración de la investigación.

A la Dra Doris Salcedo Moncada, al Dr. Gerardo Ayala De La vega, por su paciencia, orientación y ayuda durante la elaboración de la investigación.

A mi maestro el C.D. Esp. Sixto Grados Pomarino, coordinar de la Segunda Especialidad en Periodoncia de la UNMSM, por su gran ayuda en la ejecución de esta tesis y por la confianza que deposito en mí durante todos estos años.

A la C.D. Elizabeth Roxana Cabrera Pérez, mi amiga, compañera y amor de mi vida, por su aliento y motivación diaria a seguir y no desfallecer para lograr así este objetivo ahora logrado.

ÍNDICE

I.	CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
	1.1 Descripción de la realidad Problemática	1
	1.2 Formulación del problema	4
	1.3 Justificación	4
	1.4 Objetivos de la Investigación	5
	1.4.1 Objetivo general	5
	1.4.2 Objetivos específicos	5
II.	CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
	2.1 Antecedentes de la investigación	7
	2.2 Bases teóricas de la investigación	12
	2.3 Definición de términos.	32
	2.4 Hipótesis y variables	32
	2.4.1. Hipótesis General	32
	2.4.2. Hipótesis Específicas	32
	2.4.3. Variables	33

III.	CAPÍTULO III: DISEÑO METODOLÓGICO	34
	a. Tipo de investigación.	34
	b. Diseño metodológico	34
	c. Población y muestra	34
	d. Procedimientos y Técnicas	35
	e. Instrumento de recolección de datos.	40
IV.	RESULTADOS	42
V.	DISCUSIÓN	69
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
VII.	BIBLIOGRAFIA	75
VIII.	ANEXOS	83

ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICOS

CUADROS

CUADRO N°1. Descripción histológica según el grado de madurez ósea del hueso pre quirúrgico.

CUADRO N°2. Descripción histológica según la continuidad del defecto – hueso normal del hueso pre quirúrgico.

CUADRO N°3. Efecto histológico de la colocación del uso de hueso humano liofilizado y membrana amniótica liofilizada en relación al grado de madurez ósea.

CUADRO N°4. Efecto histológico, después de 16 semanas de cicatrización, observado a nivel del área de estudio y área control, según la continuidad del defecto con el hueso normal.

CUADRO N°5. Descripción clínica del hueso pre quirúrgico.

CUADRO N°6. Efecto clínico, después de 16 semanas de cicatrización, observado a nivel del área de estudio y área control.

CUADRO N°7. Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°8. Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°9. Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°10. Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°11. Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso

CUADRO N°12. Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°13. Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°14. Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

CUADRO N°15. Comparación clínica, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICOS

GRÁFICO N°1. Efecto histológico de la colocación del uso de hueso humano liofilizado y membrana amniótica liofilizada en relación al grado de madurez ósea.

GRÁFICO N°2. Efecto histológico de la colocación del uso de hueso humano liofilizado y membrana amniótica liofilizada en lo referente a la continuidad del defecto – hueso normal.

GRÁFICO N°3. Efecto clínico del uso de hueso humano liofilizado en combinación con la membrana amniótica humana y solamente el uso de membrana amniótica humana.

GRÁFICO N°4. Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°5. Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°6. Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°7. Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°8. Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso

humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°9 Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°10. Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°11. Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

GRÁFICO N°12. Comparación clínica, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

RESUMEN

En el área médico-odontológica, se han realizado diversas investigaciones en la búsqueda de sustancias naturales o sintéticas que sustituyan los tejidos perdidos del cuerpo, ya sean estos tejidos blandos o duros. La regeneración ósea guiada (ROG), se fundamenta en la utilización de sistemas de barrera mediante membranas que aíslan un determinado defecto óseo con la intención de evitar el crecimiento de tejidos con capacidad de reparación rápida, como el tejido conectivo, que interfieren con el potencial osteogénico del defecto.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto del injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la Membrana Amniótica Humana Liofilizada en la regeneración ósea en tibias de conejos. Se utilizaron 10 Conejos raza Nueva Zelanda de 6 a 9 meses de edad aproximadamente, hembras y machos en buen estado, de 3.5 Kg-4 Kg. de peso en los que se crearon defectos óseos circulares de 4mm de diámetro en la cara ventral de las tibias de los conejos. Se formaron 2 grupos, un grupo control (se colocó solamente membrana amniótica humana liofilizada) y el grupo de estudio (se colocó hueso humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada como barrera). Los animales fueron sacrificados a las 16 semanas de la cirugía, realizándose un análisis clínico e histológico de la zona donde se crearon los defectos óseos. Se concluyó que la regeneración ósea fue significativamente mayor en los defectos cubiertos con hueso humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada comparada con las muestras del grupo control en los cuales se colocó solamente membrana amniótica humana liofilizada como barrera.

Palabras clave: Regeneración ósea guiada, membrana amniótica, hueso humano liofilizado particulado mineralizado

ABSTRACT

In the medical-dental area, have conducted research in the search for natural or synthetic substances that replace lost body tissues, whether they are soft or hard tissues. The guided bone regeneration (GBR), is based on the use of barrier systems using membranes that isolate a particular bone defect with intent to prevent the growth of tissues with fast serviceability, as connective tissue, which interfere with the potential osteogenic defect.

The present study aimed to determine the effect of human lyophilized bone graft particulate mineralized in combination with Lyophilized Human Amniotic Membrane in bone regeneration in rabbit tibias. 10 New Zealand white rabbits were used for 6 to 9 months of age, males and females in good condition, 3.5 Kg-4 Kg. Of weight in which circular bone defects of 4mm diameter were created on the ventral side of the tibiae of rabbits. Formed 2 groups, a control group (only placed lyophilized human amniotic membrane) and study group (lyophilized human bone was placed mineralized particulate in combination with lyophilized human amniotic membrane as a barrier). The animals were sacrificed at 16 weeks of surgery, performed a clinical and histological analysis of the area where the bone defects were created. It was concluded that bone regeneration was significantly higher in the defects covered with lyophilized human bone particulate mineralized in combination with human amniotic membrane lyophilized samples compared to control group in which only lyophilized human amniotic membrane as a barrier was placed.

Keywords: Guided bone regeneration, amniotic membrane, lyophilized human bone mineralized particulate.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Históricamente, en el área médico-odontológica, fueron realizadas diversas investigaciones en la búsqueda de sustancias naturales o sintéticas que sustituyan los tejidos perdidos del cuerpo, blandos y duros. Relatos antiguos muestran la utilización de sustancias como marfil, hueso seco, oro, ligas de plata, entre otros materiales.¹

Durante casi 50 años se centró la atención de los investigadores en la regeneración ósea, se pensó que constituía un pre-requisito para la formación de nueva inserción, la formación de nuevo hueso induciría a la formación de nuevo cemento y ligamento periodontal . Bajo esta premisa se han empleado diferentes tipos de injertos óseos y de otros materiales, que de acuerdo a su origen se han clasificado en autoinjertos (obtenido del mismo paciente), aloinjertos (misma especie pero diferente individuo), xenoinjertos (diferente especie) e injertos aloplásticos (materiales sintéticos o cuerpo extraño inerte). Dependiendo de su acción sobre el hueso se les atribuye capacidad osteogénica, osteoinductiva u osteoconductora.²

En odontología son comunes los injertos de hueso en los defectos óseos, por ejemplo, para conservar el reborde óseo alveolar post-exodoncia e impedir así el colapso y reabsorción de las crestas alveolares, para levantamiento de piso de seno maxilar cuando este sea clase III o IV según Carl Misch, para aumentar reborde óseo cuando este es insuficiente para una futura colocación de implantes, para estimular la regeneración del hueso alrededor de los implantes dentales, así como también para estimular la regeneración del hueso alrededor del sitio quirúrgico después de las Apicectomias permitiendo así la neoformación de un hueso de mejor calidad.

El hueso autógeno, es el injerto de primera elección para la reparación ósea, por ser biocompatible; eventualmente es repuesto por el hueso del propio individuo y no provoca reacciones de hipersensibilidad. Los trasplantes de hueso autógeno han sido comúnmente usados por los profesionales de la medicina y de la odontología en reconstrucciones craneofaciales, unión de fracturas con reparación alterada y para el relleno de defectos óseos.³

Las reconstrucciones de defectos óseos extensos realizadas en cirugías ortopédicas y craneofaciales, han demostrado que existen limitaciones en el proceso de obtención del hueso del propio paciente. Esas limitaciones incluyen el tiempo requerido para la operación de obtención de hueso, aumento de morbilidad del área donadora, dolor e incomodidad postoperatorios, riesgos de infección y cantidad inadecuada de hueso osteogénico trasplantable, particularmente en niños y en adultos debilitados.³ Todos estos factores dificultan el procedimiento de colecta de hueso autógeno y ha contribuido para el desarrollo y producción en escala industrial de sustitutos óseos, sintéticos o biológicos.⁴

Frente a las limitaciones de los autoinjertos; los aloinjertos óseos de hueso liofilizado y de hueso desmineralizado liofilizado provenientes de cadáver tienen la ventaja de que disponemos de cantidades ilimitadas de material, y que los riesgos de transmisión de enfermedades son mínimos, el riesgo de transmisión del VIH en una determinada marca de hueso liofilizado desmineralizado tras los procesos de selección y procesamiento adecuados ha sido calculado de 1 en 2.8 billones.⁵ A estos materiales, se les ha considerado osteoconductores, es decir, sirven de andamiaje facilitando la migración de las células osteoprogenitoras para su futura diferenciación y proliferación. La principal razón para su desmineralización se basa en los estudios de Urist, que sugerían que la desmineralización del hueso liofilizado permitiría la exposición de proteínas morfogenéticas óseas, polipéptidos que inducirían a las células troncales pluripotenciales a diferenciarse en osteoblastos⁶, aunque este concepto está en controversia ya que se dice

que los injertos óseos humanos al ser sometidos a los diferentes procesos de esterilización pierden su capacidad osteoinductora.

La regeneración ósea guiada (ROG) se fundamenta en la utilización de sistemas barrera mediante membranas que aíslan un determinado defecto óseo, con la intención de evitar el crecimiento de tejidos con capacidad de reparación rápida, como el tejido conectivo, que interfieren con el potencial osteogénico del defecto.⁷

Cuando hay extracciones dentales, enfermedad periodontal avanzada y formación de abscesos, es más común encontrar una reabsorción ósea marcada. Esto es un problema en el sector anterior, ya que resultaría en un pónico largo, y sin estética en una cresta colapsada en sentido Apico-coronal y vestibulo-lingual. Se han desarrollado técnicas especiales para tratar problemas de reabsorción horizontal y vertical de la cresta. Estos procedimientos incluyen el uso de injertos óseos autógenos o de diferentes biomateriales, así como la inserción de barreras tipo membrana (Regeneración ósea guiada).⁸

Así mismo cuando estos defectos producidos por modelado y remodelado óseo presentan solo 1 ó 2 paredes, es necesario realizar injertos en bloque, lo que se ha estado llevando a cabo con bloques de autoinjerto combinados con autoinjerto particulado o hueso humano liofilizado particulado, mejorando así los resultados regenerativos, pudiendo restituir el tejido perdido y llevar a cabo una rehabilitación eficaz.⁸

En un intento por mejorar los resultados en la Regeneración Osea Guiada aplicaremos una técnica quirúrgica en la cual utilizaremos injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y una barrera de membrana Amniótica humana liofilizada.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál será el efecto del injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y la Membrana Amniótica Humana Liofilizada en la regeneración ósea en tibias de conejos?

1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACION

El uso de injertos óseos es una terapia alternativa que se encuentra dentro de los procedimientos quirúrgicos regenerativos, que se utilizan para lograr un aumento de volumen en zonas en las cuales el hueso residual es insuficiente para una rehabilitación adecuada.

Existen Biomateriales utilizados para regeneración ósea guiada en periodoncia, pero es claro que estos biomateriales no son iguales en términos de su efecto biológico, respuesta del huésped y resultados clínicos.

El mejor material que encontramos para regeneración ósea es el hueso autógeno, aunque para el uso de este material de relleno es necesario un segundo procedimiento quirúrgico para obtenerlo. En respuesta a este inconveniente es que se comenzaron a utilizar otros materiales de relleno, dentro de los cuales tenemos los aloinjertos, xenoinjertos y los materiales aloplásticos. Siendo el Aloinjerto la segunda mejor alternativa.

En el tratamiento de diferentes defectos óseos, Se ha desarrollado terapias regenerativas con Aloinjerto óseo liofilizado particulado, como cuando queremos hacer un aumento de volumen del reborde alveolar tanto en altura apico – coronal y como en ancho vestíbulo -palatino, combinándolo con autoinjertos óseos en bloque, mejorando así el proceso de Regeneración ósea.

Ante lo expuesto se propone investigar cual es la efecto de este injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y membrana Amniótica humana Liofilizada en el proceso de Regeneración ósea y tener así una alternativa más en dicho proceso.

1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1.4.1. OBJETIVO GENERAL:

Determinar el efecto del injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la Membrana Amniótica Humana Liofilizada en la regeneración ósea en tibias de conejos.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los cambios histológicos y clínicos producidos por el uso de injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de la membrana amniótica humana liofilizada en la regeneración ósea en tibias de conejos, después de 16 semanas de cicatrización.
- Comparar los cambios histológicos y clínicos entre el hueso receptor y el hueso con el uso de membrana amniótica humana liofilizada en la regeneración ósea en tibias de conejos, después de 16 semanas de cicatrización.
- Comparar los cambios histológicos y clínicos entre el hueso receptor y el hueso con el uso del injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con el la membrana amniótica humana

lioofilizada en la regeneración ósea en tibias de conejos, después de 16 semanas de cicatrización.

- Comparar los cambios histológicos y clínicos en el proceso de regeneración ósea después de 16 semanas de cicatrización entre el uso del injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de la Membrana Amniótica Humana Liofilizada.

CAPITULO II. MARCO TEORICO.

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

Fernandes y cols. (2001) tuvieron como objetivo de su investigación evaluar la propiedad de la matriz de dentina desmineralizada autógena osteoinductiva (MDDA) en defectos óseos del hueso parietal de conejos mediante la regeneración ósea guiada (ROG) que incorpora la técnica de colocación de membrana amniótica humana(MAH). Treinta y seis conejos fueron divididos en 2 grupos, MAH y MDDA + MAH. Fue posible concluir que MAH no interfirió con la reparación del hueso y se reabsorbe. Las rebanadas de la formación ósea inducida por la ADDM fueron incorporadas por el tejido del hueso recién formado. Los defectos óseos sanaron más rápido en el grupo MDDA + MAH que en el grupo con sólo MAH. ¹⁷

Stangogiannis-Druya (2004) investigó la eficacia del injerto de membrana amniótica como una terapia complementaria tras la remoción del pterigión recidivante comparando el resultado clínico con el autoinjerto. Para esto se analizaron 60 ojos de pacientes a los cuales se les practicó excisión quirúrgica de la hiperplasia fibrovascular nasal recidivante, seleccionados por azar simple, 30 ojos fueron sometidos a remoción de pterigión con técnica de injerto de membrana amniótica, y 30 ojos recibieron auto injerto de conjuntiva. Los resultados fueron los siguientes: Al quinto mes postoperatorio, se evidenció 3 casos (10%) de recurrencia en el grupo de injerto de membrana amniótica (3/30) y 1 caso (3%) de recurrencia en el grupo de auto injerto conjuntival (1/30). No ocurrió ninguna complicación en ambos grupos. ⁵⁹

Rinastiti y cols. (2006) evaluaron histológicamente el trasplante de membrana amniótica humana en la herida gingival de conejo. Los conejos de 4 meses de edad se dividieron en 2 grupos, es decir, de control (grupo I)

y con la membrana amniótica (grupo II). Las heridas bucales gingivales fueron creadas por un instrumento de punch-biopsia y cubierto por capas de membrana amniótica para el grupo II y dejando al descubierto la herida para el grupo I. Las biopsias gingivales fueron tomadas en los días 1, 3, 5, 7 y 10, tratados con parafina, secciones y se tiñeron con hematoxilina-eosina o Gieson von. Los resultados mostraron que el número de fibroblastos y vasos sanguíneos nuevos, pero no PMN, del grupo II fue mayor que la del grupo I ($P < 0,05$). Del mismo modo, el espesor del epitelio y la densidad de las fibras de colágeno del grupo II fueron significativamente más altos que los del grupo I ($P < 0,05$). Los resultados del presente estudio indican que el trasplante de membrana amniótica puede inducir una rápida epitelización y formación de colágeno, supresión de la inflamación, lo que sugiere que el trasplante de membrana amniótica puede promover la rápida cicatrización de la herida gingival en conejos en comparación con la curación secundaria.¹⁸

Malta y cols (2007) tuvieron como objetivo comparar la eficacia y seguridad de la utilización de membrana amniótica en la trabeculectomía del tratamiento quirúrgico del glaucoma primario de ángulo abierto. Realizaron un tratamiento, de grupos paralelos aleatorizado y prospectivo. Sesenta y tres pacientes remitidos para cirugía de glaucoma fueron divididos aleatoriamente en 2 grupos. El primer grupo fue sometido a trabeculectomía con el uso intraoperatorio de membrana amniótica (grupo de estudio) y el segundo grupo se sometieron a trabeculectomía sin el uso de membrana amniótica (grupo de control). Se evaluaron los efectos de la reducción de la presión intraocular, número de medicamentos, la aparición de la ampolla y complicaciones. Todos los pacientes fueron seguidos durante 12 meses: los resultados mostraron que los pacientes tratados con membrana amniótica humana liofilizada tuvieron mejores resultados pos operatorios.

Veis y cols. (2009) evaluaron el papel de la médula ósea en la cicatrización de defectos experimentales en tibias de conejos. Diez conejos Nueva Zelanda fueron divididos en dos grupos de cinco cada uno, en el primer grupo (experimental) la cavidad medular se vació completamente bajo un defecto de 6 mm en la metáfisis de la tibia del conejo; la médula ósea fue

reemplazada por yeso París, cubierta con una membrana de colágeno. En el segundo grupo (control), se hicieron defectos similares, pero la médula fue dejada intacta. Después de 8 semanas, los animales fueron sacrificados y se prepararon para análisis histológico e histomorfométrico. Se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,016$) en el área de hueso recién formado entre el grupo control (media $68,08\% \pm 12,09\%$) y el grupo de experimental (media $54,02\% \pm 13,93\%$). Del mismo modo, hubo una diferencia estadísticamente significativa en la nueva densidad ósea ($P < 0,001$) entre el grupo control (media, $95,99\% \pm 1,74\%$) y el grupo de experimental (media, $75,37\% \pm 13,27\%$). Ellos confirmaron el efecto significativo que la médula ósea tiene en la regeneración ósea y también las verdaderas capacidades regenerativas de las paredes óseas de los defectos.

kesting y col (2010) evaluaron el uso de múltiples capas de membrana amniótica (MAH) como material de injerto para la reparación de fístulas oronasales y paladar medio en siete cerdos enanos Berlín. Después de dos semanas, tres animales habían reparado las fístulas con injertos de varias capas de MAH, tres habían reparado con un sustituto dérmico de colágeno y una fístula sirvió de control. Los injertos se interponen entre la mucosa oral y nasal, atravesando las fístulas. Después de la curación por 40 días, los cerdos fueron sacrificados para los estudios clínicos, histológicos e inmuno-histoquímicos. Dos de las tres fístulas cerraron con la MAH, el diámetro de la tercera fue reducido de tamaño, y no hubo ningún cambio en el diámetro de la fístula control. Este estudio muestra un cierre exitoso de las fistulas oronasales en cerdos enanos mediante injertos criopreservados de MAH, y mantiene la esperanza ya que es un instrumento sencillo y eficaz para el cierre sin tensión de estas fistulas.¹⁹

Yabar (2010) realizó un estudio en 10 conejos raza Nueva Zelanda de 2 a 2.5 Kg y de 4 a 6 meses de edad en los que se crearon defectos circulares de 4 mm de diámetro en la región más inferior de las extremidades posteriores del conejo (tibia). Se formaron 2 grupos, un grupo control (no se

colocó membrana) y 1 grupo de estudio (se colocó membrana amniótica liofilizada como barrera). Los animales fueron sacrificados a las 6 semanas de la cirugía, realizándose un análisis clínico, radiológico e histológico. 3A las 6 semanas las muestras del grupo control mostró una pobre formación ósea, con una gran parte de tejido graso ocupando la zona del defecto. El grupo de estudio mostró una regeneración ósea completa del defecto (clínicamente) a las 6 semanas. Radiográficamente se observó un cambio significativo del patrón de trabeculado óseo en las muestras del grupo de estudio comparada con el grupo control. Histológicamente se observó que la mayoría de las muestras del grupo de estudio tuvo una continuidad del 100% del defecto con el hueso normal, esto acompañado de la formación de hueso maduro compacto, mientras que en el grupo control la mayoría de las muestras se halló tan solo la presencia de algunos islotes de hueso inmaduro, con una formación moderada de hueso que a lo mucho llenada 1/3 del defecto creado. ⁶⁴

Orsini y cols. (2011) tuvieron como objetivos evaluar clínica e histológicamente injertos óseos humanos frescos y congelado (FFB) los cuales se utilizaron para tratar defectos horizontales severos en los maxilares antes de la colocación del implante dental. Diez pacientes fueron tratados con injerto óseo por aposición FFB. Las mediciones utilizando la tomografía computarizada, se registraron antes de la intervención y a los 5 meses pos operatorios. Seis biopsias fueron recuperados y se procesaron con microscopía de luz. Al inicio del estudio, el grosor de la cresta alveolar maxilar tenía $2,3 \pm 0,4$ mm; después de la reconstrucción tuvo $6,8 \pm 0,5$ mm. Todos los implantes fueron exitosos después de 24 meses. Histológicamente mostraron que los bloques de FFB y hueso nuevo se integraron perfectamente.

Nordback y cols. (2012) realizaron un estudio en el cual evaluaron la cicatrización temprana de las heridas de 15 mm creadas en la piel de 53 ratas, divididos en 2 grupos las cuales fueron cubiertas un grupo con membrana amniótica y Aquacel(cloruro de sodio humedecido) y el otro grupo solo con Aquacel(cloruro de sodio humedecido) observándose mejores

resultados en la cicatrización en el grupo de estudio que utilizó la membrana amniótica y Aquacel en las primeras semanas pero su efecto disminuyó en posteriores etapas.

Ríos y cols (2012) tuvo como objetivo comparar la densidad ósea (DO) de defectos óseos tratados con membrana amniótica liofilizada (MAL) y membrana de colágeno (MC), a las 3 y 5 semanas. Se crearon dos defectos óseos, de 4 mm de diámetro y 6 mm de profundidad, en la diáfisis femoral distal izquierda de conejos Nueva Zelanda ($n=12$). Los animales fueron divididos aleatoriamente en 2 grupos. Uno de los defectos fue cubierto con membrana amniótica liofilizada (Banco de tejidos Rosa Chambergo/INSN-IPEN, Lima, Perú) o membrana de colágeno (Dentium Co, Seoul, Korea). El segundo se dejó sin cubrir (NC). Los conejos fueron sacrificados después de 3 y 5 semanas (3 conejos/periodo). Los resultados mostraron una alta DO y reparación del defecto por hueso neoformado. El estudio tomográfico reveló que la DO de los defectos tratados con MAL a las 3 semanas fue comparable a la densidad obtenida con MC y mayor comparado con la densidad de NC ($p<0,05$); mientras que a las 5 semanas fue mayor a la densidad de MC y NC ($p<0,05$). El estudio histomorfométrico no mostró diferencias significativas entre MAL y MC a las 3 y 5 semanas ($p>0,05$). Los resultados mostraron que la membrana amniótica liofilizada brindó densidad ósea comparable o mayor que la membrana de colágeno.

Zelen y cols (2013) evaluaron la cicatrización de las úlceras crónicas del pie diabético mediante el uso de la membrana amniótica humana deshidratada (Dham) en pacientes que no estuvieron bajo tratamiento estándar. La población de estudio se determinó a partir de pacientes con úlceras crónicas del pie diabético en un ensayo aleatorio que compara la atención estándar con la atención estándar en combinación de membrana amniótica humana deshidratada. Once pacientes fueron incluidos en el estudio. Este estudio proporciona evidencia de que la incorporación de Dham en el tratamiento estándar para los pacientes con úlceras del pie diabético crónico puede ser beneficioso. Los resultados sugieren que Dham es una opción viable para el tratamiento de las úlceras crónicas del pie diabético.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1. RESEÑA HISTÓRICA

Históricamente, en el área médico-odontológica, fueron realizadas diversas investigaciones en la búsqueda de sustancias naturales o sintéticas que sustituyan los tejidos perdidos del cuerpo, blandos y duros. Relatos antiguos muestran la utilización de sustancias como marfil, hueso seco, oro, ligas de plata, entre otros materiales.²⁰

El hueso autógeno es preferible, es un injerto de primera elección para la reparación ósea, por ser biocompatible; eventualmente es repuesto por el hueso del propio individuo y no provoca reacciones de hipersensibilidad. Los trasplantes de hueso autógeno han sido comúnmente usados por los profesionales de la medicina y de la odontología en reconstrucciones craneofaciales, unión de fracturas con reparación alterada y para el relleno de defectos óseos.²¹

Las reconstrucciones de defectos óseos extensos realizadas en cirugías ortopédicas y craneofaciales, han demostrado que existen limitaciones en el proceso de obtención del hueso del propio paciente. Esas limitaciones incluyen el tiempo requerido para la operación de obtención de hueso, aumento de morbilidad del área donadora, dolor e incomodidad postoperatorios, riesgos de infección y cantidad inadecuada de hueso osteogénico trasplantable, particularmente en niños y en adultos debilitados.²¹

Todos estos factores dificultan el procedimiento de colecta de hueso autógeno y ha contribuido para el desarrollo y producción en escala industrial de sustitutos óseos, sintéticos o biológicos.²²

En ese contexto, el primer material sintético utilizado para el implante en defectos óseos fue el sulfato de calcio, un biomaterial bien tolerado por el

organismo, que fue ampliamente usado en el pasado para el relleno de defectos óseos, tanto en medicina como en odontología. Sin embargo, por ser rápidamente reabsorbido por el organismo y no permitir la neoformación ósea, su utilización fue disminuida a partir de los años 70's.²³

2.2.2. INGENIERÍA TISULAR

PRINCIPIOS BÁSICOS DE REGENERACIÓN. El término ingeniería tisular fue originalmente utilizado para describir los tejidos producidos en cultivos por células desarrolladas en varias matrices porosas absorbibles. Recientes estudios han mostrado que las células óseas pueden proliferar y mantener su fenotipo cuando son cultivadas en sustratos bidimensionales y matrices porosas tridimensionales y geles in vitro. Esto ha sentado las bases para la ingeniería tisular, el cual ahora incluye la implantación de matrices porosas, solas o desarrolladas con células, para facilitar la regeneración tisular in vivo.²⁴

CICATRIZACIÓN DE TEJIDOS : REPARACIÓN VS. REGENERACIÓN.

La cicatrización de tejidos se da por regeneración o reparación. El resultado final de la reparación es un tejido fibroso, mientras que el producto final de la regeneración es un tejido con características indistinguibles del original. El problema con el tejido fibroso es que no permite la normal restauración de las propiedades físicas y fisiológicas.²⁵

Los tejidos están compuestos de células, matriz extracelular insoluble y moléculas solubles que sirven como reguladores de la función celular (generalmente polipéptidos y eicosanoides). Un requisito para la regeneración es el potencial de las células parenquimales para la división. Las células son clasificadas en lábiles, estables y permanentes. Las células lábiles están continuamente sufriendo división, las células estables pueden ser estimuladas para entrar en división, y las células permanentes nunca se dividen.²⁴

En el adulto, los tejidos compuestos de células lábiles (tales como la epidermis) y las células estables (tejido conectivo incluyendo el hueso) pueden regenerar; mientras que los tejidos conformados por células permanentes (tejido nervioso y muscular cardíaco) no lo hacen. ²⁴

Los factores importantes que influyen en el curso de la regeneración es el entorno vascular y mecánico. En tejidos avasculares con baja capacidad mitótica, no ocurre regeneración, formando un defecto. ²⁵

Una estrategia ha sido identificar los factores que interfieren con estos procesos y modular la respuesta regenerativa por medio de la adición de células exógenas, matrices análogas o sustitutos, y factores de crecimiento.

²⁵

PRINCIPIOS DE INGENIERÍA DE TEJIDOS. Toda una serie de especificaciones para una serie de materiales sustitutos en injertos óseos han incluido la fuerza del material de la matriz, con el principal objetivo de emplear sustancias resistentes para un inmediato soporte de cargas. El hecho de poseer mayor resistencia los hace materiales muy rígidos debido a su alto módulo de elasticidad, cuya desventaja radica en la alteración de la distribución de fuerzas mecánicas en los tejidos circundantes, lo que afecta en la inducción de stress para la remodelación del hueso neoformado. Si esto sucede en una matriz no reabsorbible, significa que los efectos adversos en la remodelación persistirán indefinidamente. Esta remodelación puede resultar en regiones osteopénicas alrededor del sitio implantado, incrementando el riesgo de fractura. ²⁴

CÉLULAS EXÓGENAS PARA LA INGENIERÍA DE TEJIDOS. Actualmente, las células alogénicas y autólogas del tejido a ser regenerado, crecen en un cultivo que ha sido sintetizado en vitro, están siendo investigadas para la regeneración de una variedad de tejidos. Hay ventajas y desventajas en este enfoque. Cuando las células alogénicas son usadas, el potencial de respuesta inmune y transmisión de enfermedad debe ser

considerado. Aspectos relacionados al uso de células autólogas incluyen requerimientos de la morbilidad de sitio donante.²⁶

Recientemente, se ha propuesto que las stem cells del estroma de la médula pueden usarse como precursor para muchos tejidos conjuntivos. Sin embargo, todavía no se ha demostrado que las condiciones para la diferenciación de estas células pueden ser confiablemente implementadas y que el estado de diferenciación deseado puede mantenerse.²⁵

2.2.3. INJERTOS Y SUSTITUTOS ÓSEOS:

Los cuatro tipos de injertos óseos que se ocupan más frecuentemente hoy en periodoncia son los autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y aloplásticos.

AUTOINJERTOS. Los autoinjertos (autógenos) se toman de una parte del cuerpo del paciente y se transfieren a otra. Una ventaja de este tipo de injertos es que no transfiere enfermedades. Varios son los tipos de autoinjertos que incluyen fragmentos de hueso cortical, coágulos óseos, mezcla ósea, hueso esponjoso-medular intraoral y hueso esponjoso-medular extraoral.^{27,28}

a) Fragmentos de hueso cortical: Las bases para este procedimiento fueron trazadas por Nabers y O'Leary en 1965. Consiste en obtener virutas de hueso cortical, mediante cinces de mano, del interior mismo del sitio quirúrgico. Usando este material, ellos reportaron incrementos coroneales en la altura del hueso.^{27,29,30}

b) Coágulo óseo: El coágulo óseo se obtiene usando una fresa redonda de baja velocidad en el hueso intraoral del sitio quirúrgico y mezclando entonces las partículas de hueso con la sangre del paciente. El uso de este material está basado en la racionalización de que la partícula de tamaño

pequeño es previsiblemente reabsorbida y reemplazada por el hueso huésped. Se piensa también que los fragmentos mineralizados inducen la formación de hueso. Los procedimientos de coágulo óseo tienen desventajas, las cuales incluyen problemas de aspiración, desconocimiento de la cantidad de fragmentos de hueso colectados y las limitaciones concernientes a la cantidad de hueso que puede ser obtenido.^{29,30}

c) Mezcla ósea: Su preparación surgió ante la necesidad de mejorar la manipulación del coágulo óseo. La mezcla ósea es hueso intraoral cortical o esponjoso que se obtiene con un trépano, cincel o lima. Se coloca en una cápsula de amalgama y se tritura en partículas del tamaño en un rango de 100 a 200 mm, y puede ser llevado al defecto en un porta-amalgama estéril.^{29,30}

d) Esponjoso-medular intraoral: Además de la obtención de hueso del sitio quirúrgico, se ha usado exitosamente hueso de otra fuente en la cavidad oral para los injertos óseos periodontales. Los sitios donantes de este hueso incluyen: lesiones óseas cicatrizadas, sitios de extracción cicatrizados, zonas edéntulas, torus y tuberosidades maxilares. Ninguno de estos sitios se ha mostrado superior a los otros en los resultados. Los inconvenientes de esta técnica son la necesidad de otro sitio quirúrgico para obtener el material de injerto (lo cual es a veces imposible en caso de bocas totalmente desdentadas) y que la cantidad de hueso es limitada.^{29,30}

e) Esponjoso-medular extraoral: El material se obtiene de la cresta iliaca superior, anterior o posterior; ofrece un mayor potencial para la inducción de nuevo hueso en el periodonto. Se reportó el completo relleno de la furcación y de los cráteres interproximales. Se ha descrito reabsorción radicular como una complicación frecuente de los injertos de cresta iliaca. El secado por congelación de este material ha solucionado este inconveniente. Para prepararlo, se mezcla el tejido con un medio esencial y se coloca en el congelador a 4° C, pudiendo almacenarse hasta diez días. En cuanto al llenado de los defectos, los resultados no muestran diferencias entre el material fresco y el congelado. Los inconvenientes de esta técnica son la posibilidad de infección del sitio donante y la necesidad de una cirugía

compleja para la obtención del material. Estos problemas, además de la necesidad de incrementar el hueso donado, condujeron al desarrollo de una fuente alógena de hueso.^{29,30}

ALOINJERTOS. Los aloinjertos son injertos transferidos entre miembros de la misma especie genéticamente diferentes. Su utilización se basa en que el material puede provenir tanto de un donante directo, como de un banco de hueso. Han sido usados en periodoncia tres tipos de aloinjertos óseos. El que se usa más a menudo es el hueso desmineralizado seco congelado. Se usan con menor frecuencia el hueso no desmineralizado seco congelado y el hueso esponjoso iliaco congelado.³¹

a) Hueso seco congelado (FDBA: Freeze Dried Bone Allograft): Fue el primero que se utilizó, su comportamiento es más parecido al de los materiales aloplásticos, siendo entonces un osteoconductor.³¹

b) Hueso esponjoso iliaco congelado (FIA: Freeze Iliac Allograft): Es hueso esponjoso y medula ósea de cresta iliaca, ha mostrado buenos resultados en cuanto a inducción ósea se refiere, pero para su obtención requiere una técnica compleja.^{32,33}

c) Hueso desmineralizado seco congelado (DFDBA. Demineralized Freeze Dried Bone Allograft): En 1979, Urist demostró que el tratamiento del hueso por desmineralización liberaba proteínas morfogenéticas óseas, que estimulaban al hueso receptor del injerto a producir nuevo hueso (osteoinductor). A partir de estos estudios comenzó a utilizarse el hueso desmineralizado seco congelado, que induce a las células mesenquimáticas del huésped a diferenciarse en osteoblastos. Las partículas de polvo de hueso deben tener un tamaño uniforme, comprendido entre 250 y 800 micrones, que son las de mayor poder inductivo.^{31,34}

XENOINJERTOS. Un xenoinjerto es un injerto entre diferentes especies. Existen dos fuentes disponibles como sustitutos óseos en la práctica: hueso de bovino y carbonato cálcico coralino.

a) Hueso de bovino: Se procesa el hueso de bovino para producir mineral óseo natural sin el componente orgánico, debido a esto la estructura es físicamente y químicamente comparable a la matriz mineral del hueso humano. Una ventaja es que es natural, es decir, puede proporcionar componentes estructurales similares a los del hueso humano, siendo mejor su capacidad osteoconductora. Actualmente el injerto viene desproteinizado para evitar el rechazo que se presentaba anteriormente.³⁵

b) Carbonato cálcico coralino: El carbonato cálcico es obtenido del coral natural, género Porites y se compone principalmente de aragonita (> 98% de carbonato cálcico), elementos tales como fluoruro, estroncio y magnesio están presentes en pequeñas cantidades mayor al 1 % de su concentración total. Es biocompatible y reabsorbible, con un tamaño de 100 a 200 mm, similar a la porosidad del hueso esponjoso. Más del 45% proporciona un área de superficie muy amplia para la reabsorción y sustitución por hueso, en estudios animales ha mostrado progresiva resorción por medios enzimáticos con simultáneo reemplazo de nuevo hueso. Tiene un alto potencial osteoconductor

por lo que no se ha observado que se produzca encapsulación fibrosa. La purificación del material es realizada por esterilización de radiación gamma.^{33,36}

ALOPLÁSTICOS. Los aloplásticos son materiales inertes. Se describen como materiales de injerto de hueso sintético.

Polímero HTR (Hard Tissue Replace - Reemplazo de Tejido Duro)

El polímero polimetilmetacrilato (PMMA) y el líquido polihidroxiletilmetacrilato (PHEMA) usados en el proceso del HTR han sido usados clínicamente en humanos desde los años treinta. Es resistente, no reabsorbible, microporoso, biocompatible. Está cubierto por hidróxido de calcio y la interferencia con el hueso es con la capa superficial de calcio. Histológicamente, se ha observado nuevo crecimiento de hueso depositado sobre las partículas de HTR, sirve como andamio para la formación de

hueso cuando se encuentra en estrecho contacto con el hueso alveolar. Su hidrofilia aumenta la formación de coágulo y la carga negativa de la superficie de las partículas permite que se adhiera al hueso.^{37,38}

2.2.4. REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA

El injerto óseo particulado es utilizado en pequeños defectos localizados de cresta ósea alveolar edentula en combinación con la técnica de Regeneración Osea Guiada (ROG). La técnica de la Regeneración Osea Guiada (ROG) consiste en conseguir el relleno del defecto óseo ó el aumento de volumen del hueso crestal perdido utilizando una combinación de membrana e injerto ó simplemente membrana y coagulo sanguíneo. Esta técnica se basa en el concepto de diferencial de velocidad de proliferación de las distintas células que intervienen en el proceso cicatricial, proponiendo la hipótesis de frenado de la migración de células indeseables hacia el defecto interponiendo una barrera (membrana). Esto permite al tejido óseo huésped desarrollar un entramado vascular que dará soporte al injerto.³⁹

2.2.5. PROCESO DE ESTERILIZACIÓN CON RADIACION GAMMA

Para que el hueso humano pueda ser aplicado en la práctica médica requiere estar estéril y la radiación gamma, proveniente del Cobalto-60, es un método eficaz para esterilizar productos para uso biomédico. Una de sus ventajas frente a otros métodos de esterilización es su gran capacidad de penetración y que el producto puede tratarse en su empaque final. Igualmente, el aumento de la temperatura durante el procesamiento es insignificante, por lo que es posible tratar productos sensibles al calor.

2.2.6. USO DE MEMBRANAS EN REGENERACION OSEA GUIADA

Desde los primeros experimentos sobre la nueva inserción periodontal, la presencia de epitelio de unión y de la bolsa, se han percibido como una barrera para la terapéutica exitosa. Esto se afirma con base en que la presencia de epitelio interferiría con la aposición directa del tejido conectivo y cemento, y por lo tanto limitaría la altura a la cual podrían insertarse las fibras periodontales en el cemento.⁴⁰

Se ha desarrollado una propuesta para evitar la migración epitelial, y consiste en colocar barreras de diferentes tipos que cubran al hueso y superficie radicular del tejido conectivo gingival y epitelio, esto creará un espacio entre la raíz y el tejido blando y logrará que las células del ligamento periodontal puedan migrar a lo largo de la superficie radicular para lograr nueva inserción. Este método se denomina «regeneración tisular guiada».⁴¹

Estudios de la cicatrización periodontal han dado como resultado el desarrollo de un tratamiento conocido como «regeneración tisular guiada», basado en el principio biológico de guiar la proliferación de varios componentes de los tejidos periodontales,

durante la cicatrización, posterior a la cirugía periodontal. La regeneración tisular guiada implica la colocación de una barrera que cubra el defecto periodontal del tejido gingival (epitelio y tejido conectivo), para evitar el contacto con la superficie radicular durante la cicatrización. Durante este tiempo el espacio formado entre la barrera y la raíz, permite a las células del ligamento periodontal, producir nuevo tejido conectivo de inserción y células óseas para producir nuevo hueso.⁴¹

A finales de los 80, Dahlin utiliza ese mismo concepto de regeneración utilizando membranas en defectos óseos propiciados por extracciones dentales. Este concepto es llamado regeneración ósea guiada (ROG). Esta nueva terapia periodontal cumple con los objetivos de aumentar o regenerar deficiencias del proceso alveolar; regeneración ósea alrededor de implantes

colocados inmediatamente o reparar los defectos óseos asociados con implantes fracasados.⁴²

CARACTERISTICAS DE LAS MEMBRANAS UTILIZADAS PARA REGENERACION. Existen también ciertas características que las membranas deben cumplir para poder lograr ROG:

1. La membrana deber ser constituida con materiales biocompatibles
2. La membrana debe poseer propiedades oclusivas para prevenir que el tejido conectivo fibroso no entre al espacio cubierto por la membrana, al mismo tiempo que proteja a la herida contra una invasión bacteriana si se llega a exponer la membrana.
3. La membrana debe ser capaz de proveer un espacio suficiente en el cual el tejido óseo neoformado pueda crecer y la regeneración se pueda dar.
4. La membrana debe tener capacidad de integración con los tejidos vecinos para lograr una integración tisular adecuada que permita facilitar la regeneración.
5. La membrana debe ser clínicamente manejable.⁴²

TIPOS DE MEMBRANAS UTILIZADAS EN REGENERACIÓN Existen actualmente dos tipos de membranas utilizadas para regeneración ósea guiada, membranas reabsorbibles y no reabsorbibles. Las membranas no reabsorbibles han sido

utilizadas mayormente para este tratamiento y cuentan con una mayor investigación clínica.

Más recientemente un gran número de membranas reabsorbibles han sido introducidas y al parecer ofrecen ciertas ventajas sobre los materiales no reabsorbibles tradicionales.⁴²

A. MEMBRANAS NO REABSORBIBLES

ePTFE: La primera membrana viable, especialmente diseñada para la regeneración tisular guiada y que también nos sirve para regeneración ósea guiada fue hecha de politetrafluoroetileno expandido. Esta membrana ha sido usada en numerosos estudios clínicos y en animales. La membrana consiste en dos partes contiguas. Un borde coronal o collar con una porción de microestructura abierta permitiendo que el tejido conectivo crezca dentro, diseñado para prevenir la migración apical del epitelio. La parte remanente de la barrera es oclusiva, previniendo que el tejido gingival del exterior interfiera con el proceso de cicatrización de la superficie radicular. Las complicaciones que se pueden presentar son la exposición de la barrera y/o la formación de una bolsa, causando migración epitelial, es un hecho que puede haber contaminación por depósitos bacterianos, los cuales pueden tener un efecto determinante en la capacidad regenerativa de los tejidos periodontales.⁴¹

El ePTFE por ser un material no degradable, un segundo procedimiento quirúrgico es necesario para remover la membrana. Esto es un factor negativo, desde el punto de vista costo-beneficio y con respecto a un trauma quirúrgico adicional para el paciente y nuevamente regeneración de tejidos.⁴³

B. MEMBRANAS REABSORBIBLES

Las membranas más comúnmente usadas en publicaciones científicas de regeneración tisular guiada han sido colágena, ácido poliglicólico, ácido poliláctico. Estas membranas también tienen la capacidad de ser usadas en ROG.⁴¹

COLÁGENA El material más utilizado para la confección de barreras no reabsorbibles ha sido el politetrafluoroetileno expandido. Los resultados satisfactorios han sido una característica común e incuestionable de la innumerable cantidad de trabajos de experimentación y casos clínicos publicados al respecto. No obstante a esto, algunos autores sugieren la utilización de membranas reabsorbibles, argumentando la obtención de resultados igualmente predecibles sin requerir segundas cirugías de remoción.⁴²

Para realizar ROG es necesario contar con materiales que cumplan con los mismos requisitos de los que se exigen a los utilizados para RTG. A saber: 1. biocompatibilidad; 2. oclusividad celular; 3. generación de espacio; 4. integración a los tejidos y 5. fácil manipulación. Además, es necesario que permanezcan el tiempo suficiente como para permitir la proliferación de los tejidos buscados.⁴¹

ÁCIDO POLIGLICOLICO. Barreras basadas en ácido poliglicólico han sido viables para el uso periodontal en Suecia, demostrando resultados prometedores en animales. Recesión gingival, exposición de la barrera e inflamación del tejido blando son comúnmente encontrados clínicamente. La evaluación histológica después de cinco a seis semanas de cicatrización mostró migración epitelial alrededor de la barrera y el inicio de la desintegración de la barrera fue evidente.⁴¹

ÁCIDO POLILÁCTICO. Magnusson y cols. compararon el uso de ácido poliláctico con filtros en perros. La barrera reabsorbible resultó con mayor ganancia de inserción. En un estudio (Galgut P. Pitrola y cols.) evaluó histológicamente la respuesta de los materiales de las membranas de RTG, usando un modelo transcutáneo en la superficie dorsal en ratas. El material de ácido poliláctico fue bien tolerado y gradualmente absorbido.⁴¹

2.2.7. PLACENTA

La placenta es un órgano efímero presente en la mayoría de los mamíferos y que relaciona estrechamente al bebé con su madre y atiende las necesidades de respiración, nutrición y excreción del feto durante su desarrollo. La placenta se desarrolla de las mismas células provenientes del espermatozoide y el óvulo que dieron desarrollo al feto y tiene dos componentes, una porción fetal, el corion frondoso y una porción materna o decidua basal.⁴⁴

CLASIFICACIÓN. La placenta humana es de tipo hemocorial (o discoidal), lo que quiere decir que el tejido fetal penetra el endometrio hasta el punto de estar en contacto con la sangre materna. Este tipo de placenta la presentan todos los primates y los roedores. Sin embargo, entre los mamíferos existen otros tipos de placenta⁴⁵

Endoteliocorial: en la que el corion penetra en el endometrio, llegando a tocar los vasos de la madre. Es característica de animales carnívoros, como en el gato, el perro o el lobo. Eiteliocorial: el corion toca ligeramente el endometrio materno, pero no lo penetra, como es el caso en la cerda.⁴⁶

El tipo de placenta y el grosor de la membrana o barrera placentaria están muy relacionadas con el paso de sustancias de la madre al feto, así, existe una clara relación, inversamente proporcional al grosor de la placenta, en el paso transplacentario de ciertas sustancias. Esto se ha demostrado, por ejemplo, estudiando el paso de sodio a través de los distintos tipos de placenta, y observándose que el orden en la variación de este ión (de mayor a menor) sería: placenta hemocorial, placenta endoteliocorial, placenta sindesmocorial y placenta eiteliocorial. Cabe destacar, que en el ión estudiado (el sodio), la intensidad de los intercambios aumenta de manera casi regular a lo largo de la gestación, hasta un máximo, poco antes del alumbramiento. El descenso final en estos intercambios se atribuye en la

placenta hemocorial a un depósito de fibrina sobre la superficie en la que se realizan los cambios.⁴⁷

ESTRUCTURA. La placenta humana comienza a formarse en la segunda semana de fecundación y se considera que ha adquirido su forma definitiva alrededor del tercer mes, cuando sigue extendiéndose, creciendo y engrosándose, pero ya está delimitada. Está formada por un componente materno (que es una transformación de la membrana uterina) y otra parte de origen fetal (trofoblasto), y su función es poner en relación de contigüidad la sangre de la madre y del feto.⁴⁸

FUNCIONES

ESCASA IMMUNOGENICIDAD. De las dos partes en que se dividen las membranas fetales (amnios y corion) es conocido que la membrana amniótica se forma a partir del ectodermo fetal, por lo que un embarazo es en realidad vendría a ser un injerto. Entonces el cómo es posible que un feto llegue a término sin ser rechazado es realmente difícil de comprender y puede obedecer a dos factores. Por una parte se ha podido constatar un cierto grado de inmunodepresión de la madre durante el embarazo, pero por otra en los tejidos fetales en contacto directo con los maternos apreciamos la falta de presencia de vasos sanguíneos y linfáticos y de determinados antígenos, ya que como se sabe la placenta representa una barrera hematológica entre la madre y el hijo, según lo cual las sangres de ambos raras veces tienen un contacto directo, que son causados por microrupturas de la membrana placentaria, sino que el intercambio de nutrientes se da básicamente por difusión. Estas características que le permiten al feto llegar felizmente a término pueden ser las mismas que nos permitan utilizar la membrana amniótica en injertos sin la necesidad primordial, en otro tipo de trasplantes como es el limbar o la queratoplastia

penetrante cuya intervención requiere como precedente la inmunosupresión del paciente.⁴⁹

IMPIDE LA APOPTOSIS DE LAS CÉLULAS EPITELIALES. Estudios en diferentes órganos han demostrado que la presencia de una membrana basal o de una matriz extracelular es capaz de evitar la apoptosis de las células epiteliales rescatándolas hacia un nuevo ciclo celular.⁵⁰

PERMITE UNA ADECUADA REEPITELIZACIÓN. Si considerásemos a todas las propiedades que presenta la placenta, probablemente esta sea la más importante y la que permite que su utilización sea hoy tan popular en Medicina. Varios autores utilizando muy diferentes membranas basales han llegado a la conclusión de que favorecen una más rápida epitelización. Y es que la membrana no es otra cosa que una capa de células epiteliales asentadas sobre un tejido constituido por sustancia fundamental es decir, matriz extracelular y membrana basal. A lo cual estudios realizados dentro del campo genético han constatado que la membrana amniótica expresa mRNA de gran número de factores de crecimiento (EGF, KGF, HGF y bFGF) que pueden favorecer la reepitelización tras su trasplante, tanto si lleva células como si no, aunque las cantidades de factores de crecimiento son significativamente mayores cuando el epitelio está adherido a la membrana, que sugiere un origen epitelial para estos factores de crecimiento.⁴⁹

2.2.8 IMPLANTE DE MEMBRANA AMNIOTICA

La membrana amniótica es una membrana resistente, transparente, delgada y rica en colágeno que reviste la lámina coriónica y la placenta, en el período del desarrollo fetal, muy similar a la piel. Para su uso el amnios se separa de la lámina coriónica y de la placenta lo más pronto posible después del alumbramiento. El amnios es la capa interior es lisa y brillante, su superficie

externa está compuesta por tejido conectivo mesenquimal. El corión está unido a este tejido mesenquimal y está compuesto por células epiteliales. La membrana amniótica no tiene conductos sanguíneos, conexiones nerviosas ni canales linfáticos. El grosor del amnios puede variar entre 0.02 a 0.4 mm y consta de cinco capas: epitelio, membrana basal, capa compacta, capa fibroblástica y capa esponjosa. Los resultados obtenidos con el implante de membranas amnióticas han propiciado su uso en las diferentes especialidades. Una de las barreras más importantes que se debe salvar es el riesgo de transmitir enfermedades infecto contagiosas de donante a paciente.⁵⁰

MEMBRANA AMNIOTICA HUMANA. La membrana amniótica es una membrana resistente, transparente, delgada y rica en colágeno que reviste la lámina coriónica y la placenta, en el período del desarrollo fetal, muy similar a la piel. Para su uso el amnios se separa de la lámina coriónica y de la placenta lo más pronto posible después del alumbramiento. El amnios es la capa interior es lisa y brillante, su superficie externa está compuesta por tejido conectivo mesenquimal. El corión está unido a este tejido mesenquimal y está compuesto por células epiteliales. La membrana amniótica no tiene conductos sanguíneos, conexiones nerviosas ni canales linfáticos. El grosor del amnios puede variar entre 0.02 a 0.4 mm y consta de cinco capas: epitelio, membrana basal, capa compacta, capa fibroblástica y capa esponjosa. Los resultados obtenidos con el implante de membranas amnióticas han propiciado su uso en las diferentes especialidades. Una de las barreras más importantes que se debe salvar es el riesgo de transmitir enfermedades infecto contagiosas de donante a paciente.⁵⁰

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA⁵⁰

1. Actúa como sello biológico
2. Prolonga la supervivencia y la capacidad de clonación de las células progenitoras

3. Promueve la diferenciación de las células epiteliales no calciforme
4. Promueve la diferenciación de las células epiteliales calciforme en presencia de fibroblastos Conjuntivales
5. Excluye células inflamatorias con propiedades anti proteasa
6. Suprime el sistema de señalización mediante TGF_B y la diferenciación mio fibroblástica de los fibroblastos normales.
7. Inhibe la angiogénesis
8. Produce efecto antimicrobiano

BASES MOLECULARES DE ACCIÓN DE LA MEMBRANA AMNIÓTICA

51,52

1. Baja antigeneicidad (baja expresión antígenos complejo mayor de histocompatibilidad).
2. Secreción de factores de crecimiento epitelial: EGF, TGF-alpha, KGF, HGF, bFGF, TGF-beta1, -beta2, -beta3, KGFR y HGFR.
3. Aumento índice apoptosis células inflamatorias (P.M.N.).
4. Disminución factores de diferenciación miofibroblastos.
5. Inhibición proteasas.
6. Desestructuración genes codificadores de interleuquinas.
7. Sus lamininas favorecen el anclaje celular mediante hemidesmosomas.

EXTRACCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LA MEMBRAN AMNIÓTICA

Tanto la extracción de membrana amniótica como el proceso de conservación humana y su implante deben ser actividades a realizar por un equipo conocedor de los transplantes y su manejo. La extracción programada se realiza en el curso de una cesárea para evitar la contaminación que puede afectar al tejido al pasar por el canal del parto.⁵³

Previamente se ha seleccionado una paciente que no presenta ninguna patología (embarazo sin incidencias, sin incompatibilidad RH y con pruebas de screening serológicas negativas: VIH, Toxoplasma, VHB, VHC, VDRL y FTA...) y se le ha informado del proceso lo que se reflejará con la firma de un consentimiento específico. Es fundamental la colaboración de la paciente seleccionada pues es necesario repetir a los 3 y 6 meses la serología para descartar casos en “período ventana” serológico.⁵³

El procesamiento del amnios se realiza en campana de flujo laminar VECO, modelo BIOSAFE 12 CL-II tipo A (clase 100) y consiste en una serie de lavados seguido de limpieza, corte, empaque y radioesterilización. Paralelamente se realiza controles microbiológicos y aseguramiento de esterilidad.⁵⁰

Lavados: La secuencia es de dos lavados con: solución salina (10 minutos cada uno con agitación manual), se sigue con un lavado con solución de Hipoclorito de sodio 0,05%: por 30 minutos agitando manualmente y se termina con tres lavados con agua estéril: también por 10 minutos con agitación manual.⁵⁰

Limpieza: Se retira el corión del amnios. El corión es una capa gelatinosa que cubre la cara coriónica del amnios; esta capa es retirada cuidadosamente con una pinza.⁵⁰

Secado: Dentro de la campana de flujo laminar la membrana se extiende sobre tul estéril dejándola adherida a éste, cuidando poner la cara coriónica

en sentido opuesto a esta tela, se deja secar toda la noche colgando de manera de evitar formación de arrugas, con el flujo laminar encendido.⁵⁰

Empaque: Una vez seco el amnios es cortado dentro de la campana de flujo laminar, en trozos aproximados de 2x2 cm con técnica estéril (junto con el tul), apartando los bordes irregulares. Esos bordes y los restos sobrantes se conservan para ser utilizados en los controles de calidad. Los trozos de amnios cortados se envasan, siempre en campana de flujo laminar, en un sobre plástico estéril sellándolo térmicamente con doble sello. Sobre la cara superior de este envase se adhiere un rótulo incluyendo toda la identificación de ese tejido (nombre del tejido, código de identificación, fecha de vencimiento, cantidad y tamaño de las láminas y un indicador de irradiación). Sobre la cara posterior se adhiere otro rótulo con información respecto a la forma de uso del tejido y de las condiciones recomendadas para el almacenamiento. Cada envase es registrado en la hoja de procesamiento con el mismo código del envase y con la cantidad y tamaño de láminas contenidas en éste. Luego se agrega un segundo empaque plástico (bolsas para vacío con 90% de vacío).⁵⁰

Irradiación: Los tejidos se irradian en su empaque final con dosis de 25 kGy, en un irradiador de Cs137 BPCDI con actividad de 35 mil Ci.⁵⁰

Almacenamiento y cuarentena: los tejidos se almacenan a temperatura ambiente, protegidos de la luz y correctamente identificados, esperando el recontrol serológico de la donante el cual se efectúa a los 180 días post procuración.⁵⁰

PROCESO DE LIOFILIZACIÓN

La liofilización es una modalidad de secado que consiste en la eliminación del agua por sublimación de la misma. Se debe de trabajar a una presión y temperatura por debajo del punto triple. $T < 0,0099^{\circ}\text{C}$ y $P < 610,5 \text{ Pa}$, si en

estas condiciones se aporta el calor latente de sublimación unos 2,84 MJ/kg el hielo se transforma directamente en vapor.⁵⁴

El proceso de liofilización consta de tres partes:

1.- Congelación previa, se separa el agua de los componentes hidratados del producto, por la formación de cristales de hielo o mezclas eutécticas.⁵⁴

2.- Sublimación de estos cristales que elimina el agua del seno del producto trabajando a presión y temperatura por debajo del punto triple y aportando el calor latente de sublimación. Esta etapa tiene lugar en el liofilizador.⁵⁴

3.- Evaporación o desorción del agua que queda todavía adsorbida en el interior del producto. Es decir una vez sublimado todo el hielo, todavía queda cierta agua retenida en el alimento (agua enlazada) para ello se aumenta la temperatura del liofilizador manteniendo el vacío lo cual favorece su evaporación, o bien el producto es llevado a un secadero.⁵⁴

2.3 DEFINICION DE TERMINOS

PTFE: El politetrafluoretileno es un polímero de flúorcarbono inerte, biocompatible, no poroso, no permite el crecimiento del tejido hacia adentro y no provoca reacción de cuerpo extraño.

BMP (Bone Morfogenetics Protein): Proteínas morfogenéticas óseas. Son factores de crecimiento que pertenecen a la familia de los factores de crecimiento transformantes TGF-beta(TGF- β), una súper familia de proteínas con la capacidad de inducir fuertemente la formación de hueso nuevo, cartílago y tejido conjuntivo.

2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1 HIPÓTESIS GENERAL

El injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y membrana amniótica humana liofilizada producen mejor efecto histológico y clínico en la Regeneración ósea que solo el uso de la membrana amniótica humana liofilizada.

2.4.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

Existen cambios histológicos y clínicos en el grupo experimental y control después de 16 semanas de cicatrización.

En el análisis histológico y clínico la membrana amniótica humana liofilizada (grupo control) mostrara resultados similares al hueso receptor después de 16 semanas de cicatrización.

En el análisis histológico y clínico el injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con membrana amniótica humana liofilizada (grupo experimental) mostrara resultados similares al hueso receptor después de 16 semanas de cicatrización.

En el análisis histológico y clínico el injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y membrana amniótica humana liofilizada mostrara mejores resultados que solo el uso de la membrana amniótica humana liofilizada después de 16 semanas de cicatrización.

2.4.3 IDENTIFICACION DE VARIABLES

Variable independiente: injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y membrana amniótica humana liofilizada.

Variables dependientes: Regeneración Ósea

CAPITULO III. DISEÑO METODOLOGICO

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

EXPERIMENTAL: Se evaluó el efecto del hueso humano liofilizado y Membrana amniótica liofilizada como biomateriales en el proceso de regeneración ósea en las tibias de conejos teniendo un grupo control.

LONGITUDINAL: Ya que se examinaron las variables al inicio y final del estudio

PROSPECTIVO: Los resultados del efecto del hueso humano liofilizado y la Membrana amniótica liofilizada como barrera en el proceso de regeneración ósea guiada se han registrado a medida que ocurren en controles después de 16 semanas de cicatrización.

ANALÍTICO: El estudio se centra en una relación causa – efecto .

3.2 UNIDAD DE ANÁLISIS

Tibia de conejo

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA:

La muestra de estudio estuvo conformada por 10 Conejos raza Nueva Zelanda de 6 a 9 meses de edad aproximadamente, hembras y machos en buen estado, de 3.5 Kg-4 Kg. de peso.

TIPO DE MUESTREO:

- Probabilístico

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Diez tibias de conejo de 6 a 9 meses de edad aproximadamente y de 3.5 Kg a 4 Kg. de peso.

SELECCIÓN DE LA MUESTRA:

Criterios de inclusión: Conejos de sanos libres de enfermedades infectocontagiosas y parasitarias transmisibles a humanos y otros.

Criterios de exclusión: Aquellos que no cumplan los criterios de inclusión

3.4 PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS:

- Se consiguieron las muestras de 10 conejos nueva Zelanda de la facultad de medicina veterinaria de la UNMSM debido que ahí se puede encontrar este tipo de muestra de manera fiable, ya que son estandarizados en peso y edad.
- Se coordinó con el Servicio de Cirugía Experimental de la Clínica Veterinaria Chelsea Vet. Para la ejecución de esta tesis.
- Los animales usados en el estudio fueron enjaulados individualmente en los laboratorios de la clínica, alimentados con comida tradicional de conejo más agua.

- Los animales fueron dejados por 7 días desde su llegada en los laboratorios de la institución para su aclimatación a su nuevo ambiente.
- Después del periodo de aclimatación se programó la cirugía en un mismo día, en el cual se operaron los 10 conejos siguiendo los protocolos establecidos por el médico veterinario.
- El procedimiento anestésico, los procedimientos quirúrgicos, los cuidados post operatorios, la obtención de la muestra de los animales, fueron supervisados por los especialistas correspondientes de dicha institución, en condiciones de asepsia adecuada.

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICOS

- Después del periodo de aclimatación los animales fueron preparados para la implantación quirúrgica del material en estudio. Se retiró el agua y la comida 20 horas antes de la intervención. El procedimiento anestésico fue realizado mediante la administración de ketamina (35 – 50 mg/Kg), más xilacina “xylazine Hydrochloride” (10 – 15 mg/Kg), el nivel de anestesia fue mantenido con la administración de ketamina por vía intramuscular. El mantenimiento de la anestesia fue controlado mediante la pérdida del reflejo pupilar del ojo y la relajación del músculo esquelético de la zona quirúrgica.
- Después de la anestesia, el sitio quirúrgico fue preparado para trabajar en la región más baja de las extremidades posteriores (tibia), una incisión de 7 cm., fue hecha en la superficie medial de la tibia, extendiéndose hasta el periostio, luego se procedió al levantamiento del colgajo dejando el hueso expuesto. Se utilizó un kit de fresas quirúrgicas cilíndricas estériles de la marca Mis Implant, (ver Figura 1) empezando por la fresa lanza, seguida de la fresa piloto y finalmente las fresas ensanchadoras llegando hasta la fresa 4 mm de diámetro

creándose así defectos de 4mm de diámetro (ver Figura 2), extendiéndonos 2mm a través de la cortical hasta llegar al hueso esponjoso, se procedió a colocar el material de investigación (Injerto óseo humano liofilizado particulado mineralizado y membrana amniótica humana liofilizada, producida y proporcionada por el Instituto Nacional Peruano de Energía Nuclear / IPEN) para cubrir completamente la entrada de los defectos. En cada tibia tuvimos 2 sitios de osteotomía, un sitio en cada tibia fue el control, el cual solo fue cubierto con la membrana amniótica humana liofilizada y el sitio restante fue cubierto con el Injerto óseo liofilizado particulado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada.

- Se procedió a suturar todos los planos, los más profundos con hilo reabsorbibles de Acido poliglicólico 5/0 y los más superficiales con seda negra 3 /0.⁵⁵ (ver Figura 3)

CUIDADOS POST OPERATORIOS:

- Todos los animales fueron objeto de un control diario en los primeros 3-4 días después de la cirugía para observar cambios en el apetito, apariencia física y la protección de la extremidad afectada, un régimen de xilacina 5mg/Kg, fue administrado cuando era necesario como analgésico.²⁴
- Se esperó un periodo de 16 semanas de cicatrización, logrando así que el material de relleno (hueso humano liofilizado y Membrana amniótica humana liofilizada) se reabsorbiera completamente.
- Pasado las 16 semanas, se procedió a obtener las muestra de los conejos a cargo de los veterinarios, los cuales utilizaran una dosis de 60 mg/kg de pentobarbital sódico.⁴⁸

- Se procedió a realizar la obtención de la muestra, se realizó un colgajo a espesor total, separando tejido epitelial, muscular y perióstico, logrando así poder realizar el estudio clínico e histopatológico que fue llenado en la ficha correspondiente.
- Para el análisis clínico, los datos se obtuvieron de acuerdo a los parámetros establecidos por Heiple y registrado en la ficha correspondiente (Anexo 2). Para el análisis histológico las muestras de las tibia se obtuvieron por medio de una disección con una sierra de diamante, posteriormente se fijó en formol al 10%. Luego, en el Laboratorio, las muestras fijadas fueron lavadas con agua destilada y descalcificadas con ácido nítrico al 15%, a temperatura ambiente y durante un periodo de 5 a 21 días, dependiendo del tamaño de la muestra. A continuación, fueron lavadas con agua destilada, se deshidrataron con alcoholes graduales de 50%, 70%, 96% y 100% y fueron aclaradas con xilol para ser incluirse en parafina con un punto de fusión de 54 °C. Después se realizaron cortes utilizando el microtomo por rotación con un grosor de 7 μ m y se tiñeron con la técnica de Hematoxilina- Eosina (H-E). Por último, se observó al microscopio electrónico el cual permitió identificar el predominio de diferentes células, entre ellas los osteoblastos, osteocitos, etc. y determinar así el proceso de la regeneración ósea comparando el grupo control y experimental, que fue registrado en la fichas correspondientes (Anexo 1).



Figura 1. Para la creación del defecto se utilizó el mismo sistema de fresas que utilizamos para la colocación de implantes cilíndricos, con el mismo protocolo de trabajo



Figura 2. Defectos óseos de 4 mm de diámetro, en cada tibia se realizaron 2 perforaciones una para nos sirvió como área de estudio y la otra como área control



Figura 3. Sutura por planos, los planos mas profundos con hilo reabsorbible y el mas superficial con hilo no reabsorbible.

3.5 TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Se determinó el efecto de esta combinación de membrana amniótica y hueso humano liofilizado, realizando la valoración de la misma en el proceso de regeneración ósea guiada en dos niveles: a nivel clínico (realizando la valoración macroscópica de la zona donde se colocó la membrana después de 16 semanas de cicatrización) y a nivel histológico (mediante las observaciones en microscopia optica) de las muestras obtenidas del proceso de regeneración ósea después de 16 semanas de cicatrización, para lo cual se tomaron en cuenta 2 criterios: la continuidad del defecto óseo – hueso normal y el grado de madurez ósea. Con este fin se obtuvieron en total 20 muestras (10 del grupo de estudio y 10 del grupo control) las cuales fueron analizadas clínica e histológicamente.

Los datos que fueron obtenidos a través de la ficha de registros de información, se muestran los valores medios de los puntos obtenidos en los dos grupos de tratamiento, siguiendo la escala de puntuación propuesta por Heiple.:

Grado de madurez ósea. 1. Presencia de células indiferenciadas. 2. Proliferación y diferenciación de las células indiferenciadas a células formadoras de hueso. 3. Presencia de islotes aislados de hueso inmaduro. 4. Espículas óseas uniendo los islotes de hueso inmaduro conformando un patrón heterogéneo. 5. Hueso maduro compacto.

Continuidad del defecto-hueso normal (unión ósea)

0. Ausencia de formación ósea en el reborde del defecto. 1. Escasa formación ósea. 2. Moderada formación ósea; 2/3 del defecto sin relleno óseo. 3. Elevada formación ósea; 1/3 del defecto sin relleno óseo. 4. Relleno casi total del defecto (mayor de 2/3 del defecto). 5. Continuidad del defecto con el hueso normal del 100%.



Figura 4. H-E 40x

Imagen histológica de la tibia del conejo .

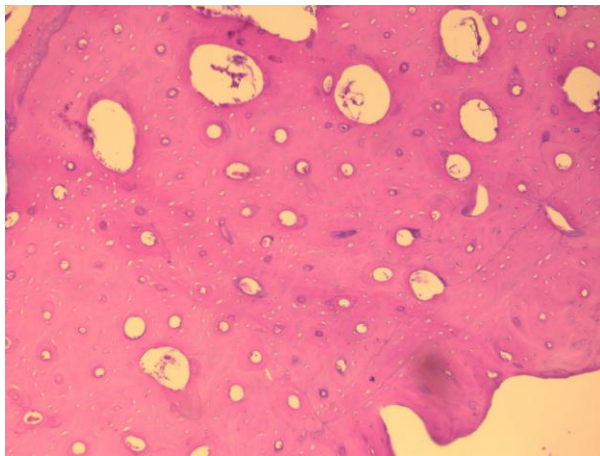


Figura 5. H-E 200x

Imagen histológica del grupo de estudio mostrándose espacios medulares y hueso maduro compacto

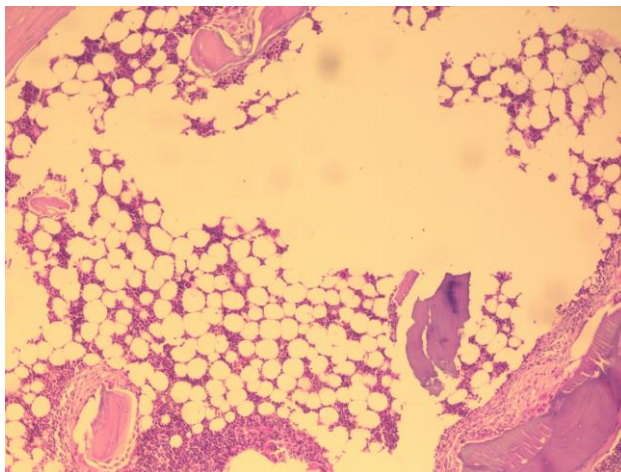


Figura 6. H-E 40x

Imagen histológica del grupo control, en la cual se aprecia medula ósea roja y amarilla conjuntamente de islotes aislados de hueso inamduro.

CAPITULO IV: RESULTADOS:

CUADRO N° 1: Descripción histológica según el grado de madurez ósea del hueso pre quirúrgico.

GRADO DE MADUREZ OSEA	n	%	TOTAL
PRESENCIA DE CELULAS INDEFERENCIADAS	0	0%	0
PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE CELULAS INDEFERENCIADAS	0	0%	0
PRESENCIA DE ISLOTES AISLADOS DE HUESO INMADURO	0	0%	0
ESPICULAS OSEAS UNIENDO LOS ISLOTES DE HUESO INMADURO	0	0%	0
HUESO MADURO COMPACTO	10	100%	10
TOTAL	10	100%	10

De un total de 10 tibias de conejo, evaluadas histológicamente el hueso pre quirúrgico según el grado de madurez, se observó en todas las muestras la presencia de un hueso maduro compacto (100%)

CUADRO N°2: Descripción histológica según la continuidad del defecto – hueso normal del hueso pre quirúrgico.

CONTINUIDAD DEL DEFECTO - HUESO NORMAL	n	%	TOTAL
AUSENCIA DE FORMACION OSEA EN EL REBORDE DEL DEFECTO	0	0%	0
ESCASA FORMACION OSEA	0	0%	0
MODERADA FORMACION OSEA (2/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	0	0%	0
ELEVADA FORMACION OSEA (1/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	0	0%	0
RELLENO CASI TOTAL DEL DEFECTO (MAYOR DE 2/3)	0	0%	0
CONTINUIDAD DEL DEFECTO CON EL HUESO NORMAL 100%	10	100%	10
TOTAL	10	100%	10

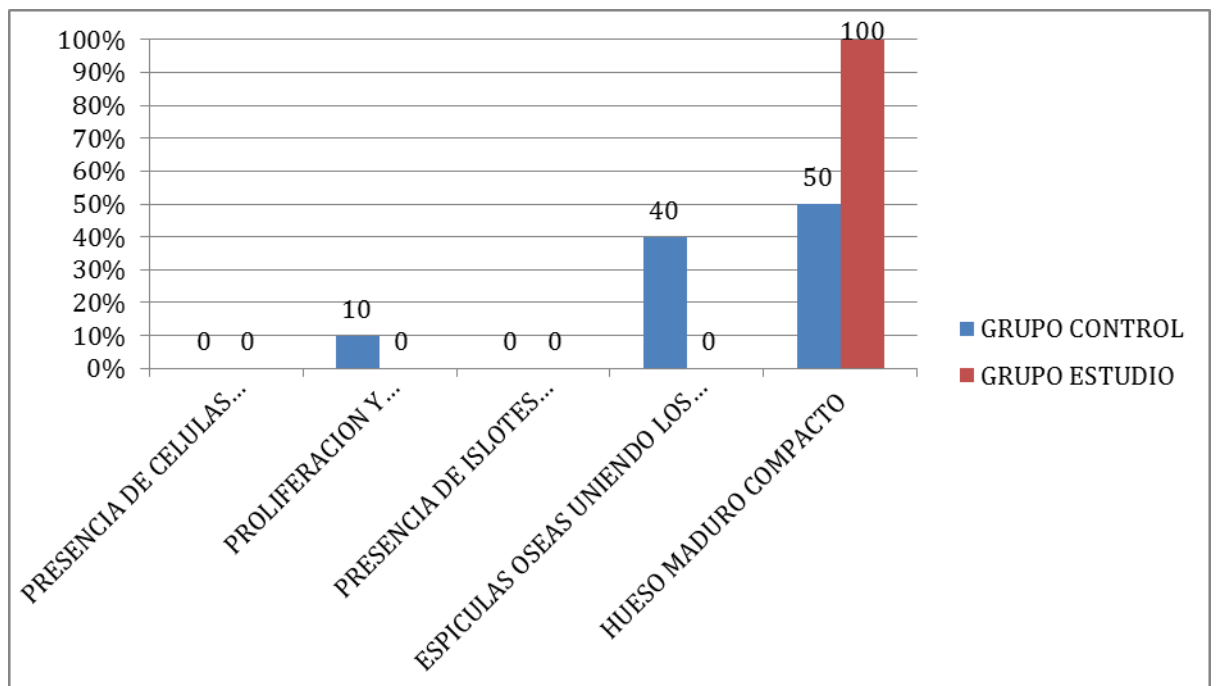
Con respecto a la continuidad defecto hueso normal, histológicamente se observo en las muestras el 100% con continuidad.

CUADRO N°3: Efecto histológico de la colocación del uso de hueso humano liofilizado y membrana amniótica liofilizada en relación al grado de madurez ósea.

GRADO DE MADUREZ OSEA	GRUPO MEMBRANA AMNIOTICA		GRUPO HUESO Y MEMBRANA A.	
	n	%	n	%
PRESENCIA DE CELULAS INDERENCIADAS	0	0%	0	0%
PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE CELULAS INDEFERENCIADAS	1	10%	0	0%
PRESENCIA DE ISLOTES AISLADOS DE HUESO INMADURO	0	0%	0	0%
ESPICULAS OSEAS UNIENDO LOS ISLOTES DE HUESO INMADURO	4	40%	0	0%
HUESO MADURO COMPACTO	5	50%	10	100%
TOTAL	10	100%	10	100%

Con respecto al “grado de madurez ósea” se observó que en el grupo de estudio el 100% de las muestras alcanzo un hueso maduro compacto, en comparación al grupo control en el que solo lo alcanzo en un 50 % .

GRAFICO N °1: Efecto histológico de la colocación del uso de hueso humano liofilizado y membrana amniótica liofilizada en relación al grado de madurez ósea.

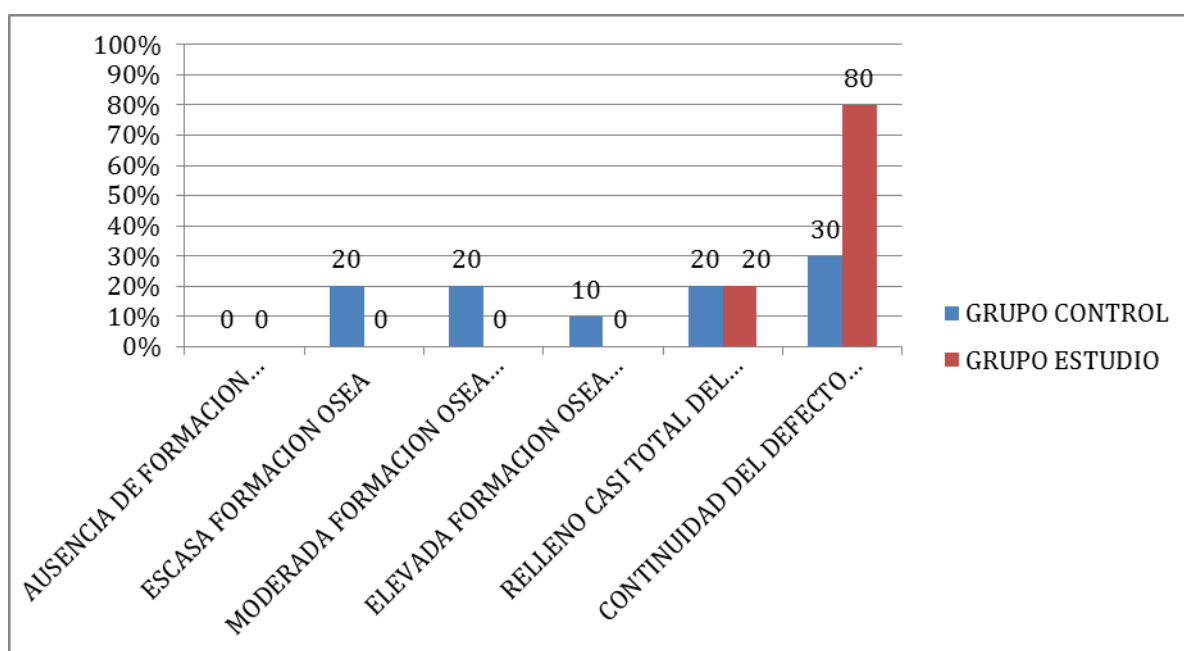


CUADRO N°4: Efecto histológico, después de 16 semanas de cicatrización, observado a nivel del área de estudio y área control, según la continuidad del defecto con el hueso normal.

	GRUPO		GRUPO	
	MEMBRANA AMNIOTICA		HUESO Y MEMBRANA A.	
CONTINUIDAD DEL DEFECTO - HUESO NORMAL	n	%	n	%
AUSENCIA DE FORMACION OSEA EN EL REBORDE DEL DEFECTO	0	0%	0	0%
ESCASA FORMACION OSEA	2	20%	0	0%
MODERADA FORMACION OSEA (2/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	2	20%	0	0%
ELEVADA FORMACION OSEA (1/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	1	10%	0	0%
RELLENO CASI TOTAL DEL DEFECTO (MAYOR DE 2/3)	2	20%	2	20%
CONTINUIDAD DEL DEFECTO CON EL HUESO NORMAL 100%	3	30%	8	80%
	10	100%	10	100%

En cuanto a los resultados histológicos según la continuidad defecto – hueso, se observó que el 80% de las muestras del grupo de estudio mostraron continuidad al 100% del defecto con el hueso normal, mientras que en el grupo control se reportó un 30% del mismo.

GRAFICO N °2: Efecto histológico de la colocación del uso de hueso humano liofilizado y membrana amniótica liofilizada en lo referente a la continuidad del defecto – hueso normal.



GRUPO CONTROL= GRUPO MEMBRANA A.

GRUPO ESTUDIO = GRUPO HUESO Y MEMBRANA A.

CUADRO N°5: Descripción clínica del hueso pre quirúrgico.

DESCRIPCION CLINICA	HUESO PRE QUIRURGICO			
	SI		NO	
	n	%	n	%
REACCION INFLAMATORIA DE NIVEL DE TEJIDOS BLANDOS	0	0%	10	100%
INFECCIONES O EXUDADOS	0	0%	10	100%
FRACTURAS DE LA ZONA DE TRABAJO	0	0%	10	100%
TEJIDO BLANDO LLENANDO EL DEFECTO	0	0%	10	100%
TEJIDO OSEO LLENANDO EL DEFECTO	10	100%	0	0%

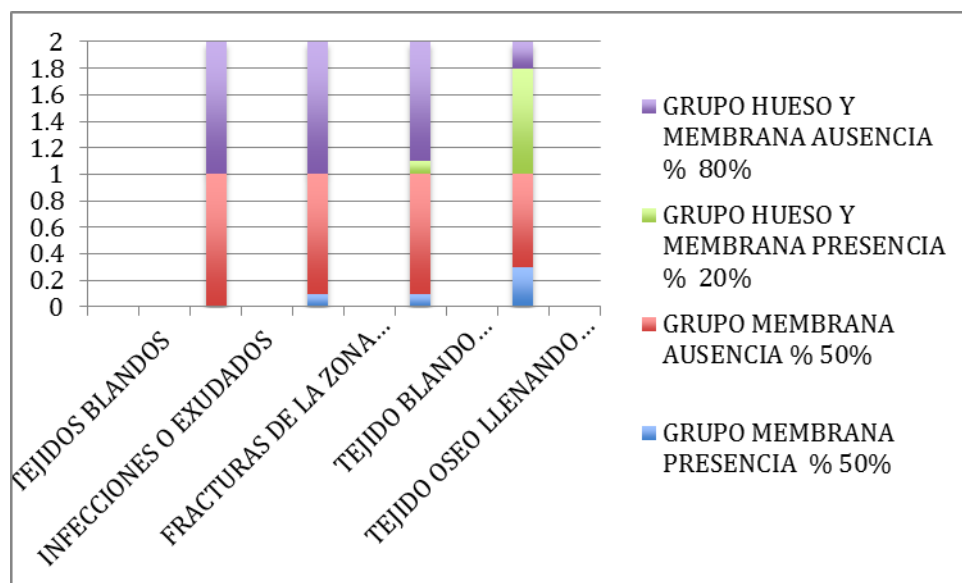
De un total de 10 tibias de conejo, evaluadas clínicamente el hueso pre quirúrgico, se observó en todas las muestras el tejido óseo llenando el defecto.

CUADRO N°6: Efecto clínico, después de 16 semanas de cicatrización, observado a nivel del área de estudio y área control.

	PRESENCIA		AUSENCIA		PRESENCIA		AUSENCIA	
	n	%	n	%	n	%	n	%
REACCION INFLAMATORIA DE NIVEL DE TEJIDOS BLANDOS	5	50%	5	50%	2	20%	8	80%
INFECCIONES O EXUDADOS	0	0%	10	100%	0	0%	10	100%
FRACTURAS DE LA ZONA DE TRABAJO	1	10%	9	90%	0	0%	10	100%
TEJIDO BLANDO LLENANDO EL DEFECTO	1	10%	9	90%	1	10%	9	90%
TEJIDO OSEO LLENANDO EL DEFECTO	3	30%	7	70%	8	80%	2	20%
GRUPO MEMBRANA A.								
HUESO Y	GRUPO							
	MEMBRANA A.							

De un total de 10 tibias de conejo se observó clínicamente 80% de las muestras del grupo de estudio llenando el defecto de tejido óseo, mientras en el grupo control se observó solo el 30%. Asimismo se observó una fractura de tibia (10%) en el grupo control.

GRAFICO N °3: Efecto clínico del uso de hueso humano liofilizado en combinación con la membrana amniótica humana y solamente el uso de membrana amniótica humana.



CUADRO N°7: Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

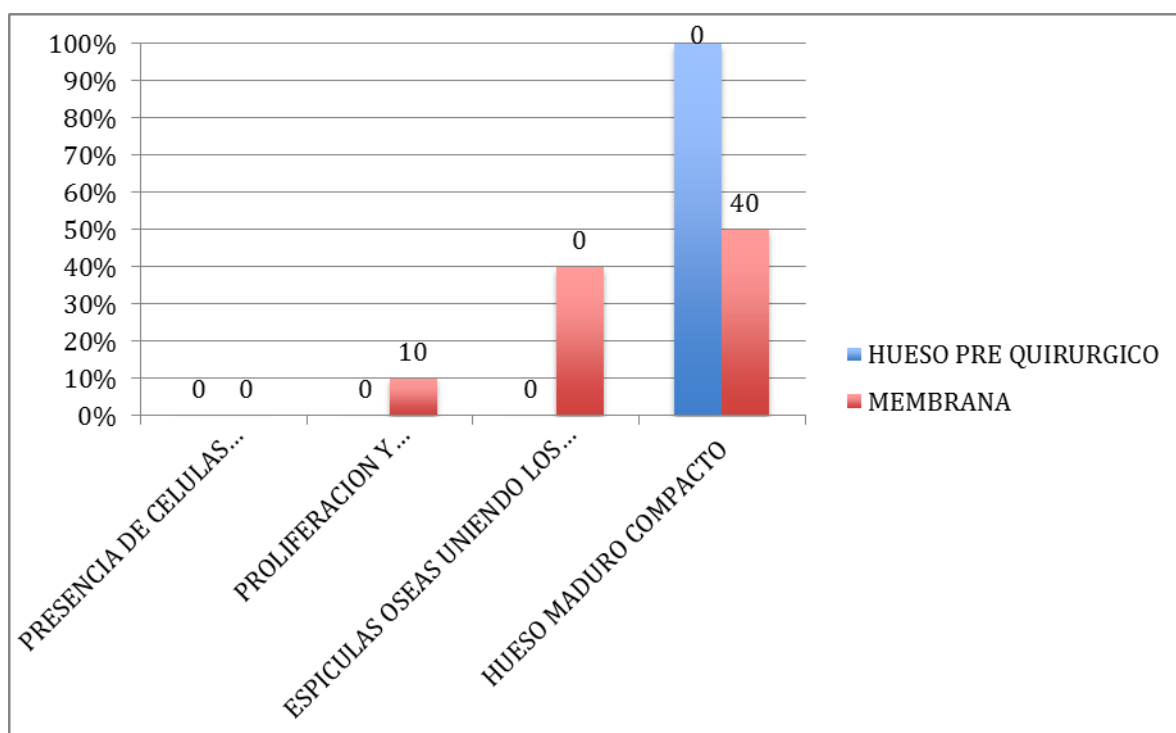
	HUESO PRE QUIRURGICO		GRUPO MEMBRANA A.		TOTAL		p *
	n	%	n	%	n	%	
PRESENCIA DE CELULAS INDERENCIADAS	0	0%	0	0%	0	0%	0,036
PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE CELULAS INDEFERENCIADAS	0	0%	1	10%	1	5%	
PRESENCIA DE ISLOTES AISLADOS DE HUESO INMADURO	0	0%	0	0%	0	0%	
ESPICULAS OSEAS UNIENDO LOS ISLOTES	0	0%	4	40%	4	20%	
DE HUESO INMADURO							
HUESO MADURO COMPACTO	10	100%	5	50%	15	75%	
Total	10	100%	10	100%	20	100%	

*** Chi cuadrado**

Se encontró hueso maduro compacto en el 50% de la muestra del grupo control, según el Índice de Heiple en comparación al 100% que tuvo el hueso pre quirúrgico.

Mediante la prueba de chi cuadrado se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p < 0.05$)

GRAFICO N°4: Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.



CUADRO N°8: Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

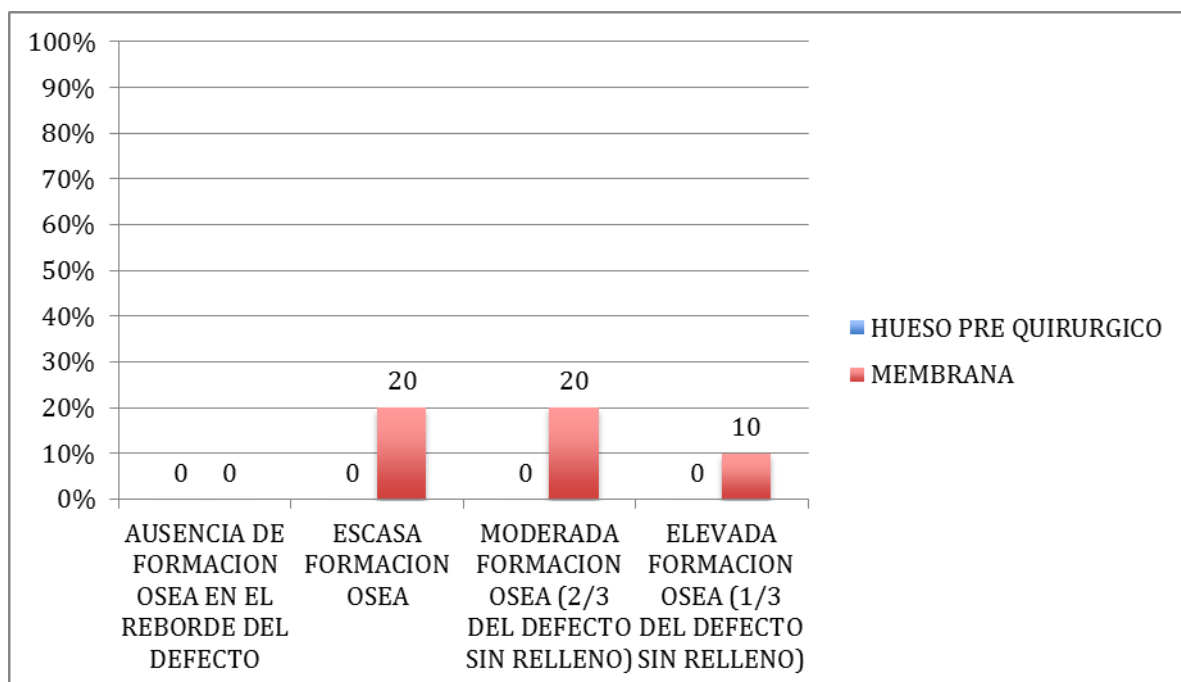
	HUESO PRE QUIRURGICO		MEMBRANA		TOTAL		
	n	%	n	%	n	%	p *
AUSENCIA DE FORMACION OSEA EN EL REBORDE DEL DEFECTO	0	0%	0	0%	0	0%	0,029
ESCASA FORMACION OSEA	0	0%	2	20%	2	10%	
MODERADA FORMACION OSEA (2/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	0	0%	2	20%	2	10%	
ELEVADA FORMACION OSEA (1/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	0	0%	1	10%	1	5%	
RELLENO CASI TOTAL DEL DEFECTO (MAYOR DE 2/3)	0	0%	2	20%	2	10%	
CONTINUIDAD DEL DEFECTO CON EL HUESO NORMAL 100%	10	100%	3	30%	13	65%	
TOTAL	10	100%	10	100%	20	100%	

*** Chi cuadrado**

Se observó que en el grupo control se encontró solo un 30% de los casos que la tuvo una continuidad del defecto con el hueso normal, mientras que el hueso pre quirúrgico la presentó en el 100% de los casos.

Mediante la prueba de chi cuadrado se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. ($p < 0.05$)

GRAFICO N°5: Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.



CUADRO N°9: Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

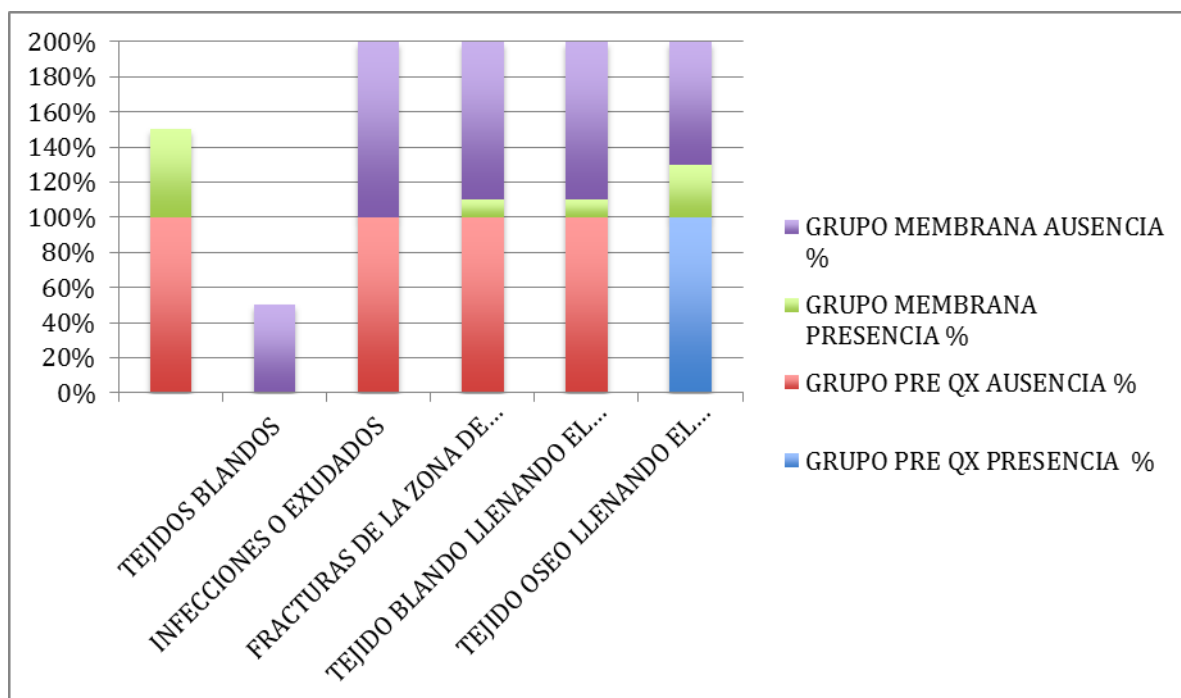
	HUESO PRE QUIRURGICO				GRUPO MEMBRANA				p *
	PRESENCIA		AUSENCIA		PRESENCIA		AUSENCIA		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
REACCION INFLAMATORIA DE NIVEL DE TEJIDOS BLANDOS	0	0%	10	100%	5	50%	5	50%	0,010
INFECCIONES O EXUDADOS	0	0%	10	100%	0	0%	10	100%	
FRACTURAS DE LA ZONA DE TRABAJO	0	0%	10	100%	1	10%	9	90%	0.305
TEJIDO BLANDO LLENANDO EL DEFECTO	0	0%	10	100%	1	10%	9	90%	0,305
TEJIDO OSEO LLENANDO EL DEFECTO	10	100%	0	0%	3	30%	7	70%	0.001

*** Chi cuadrado**

Los hallazgos clínicos en el grupo de estudio revelan que el 100% de la muestra obtuvo un tejido óseo llenando el defecto a comparación de solo el 30% encontrado en el grupo control.

Mediante la prueba de chi cuadrado se encontró que si existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos cuando nos referimos al llenado del defecto con tejido óseo. ($p < 0.05$)

GRAFICO N°6: Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto de la membrana amniótica humana liofilizada.

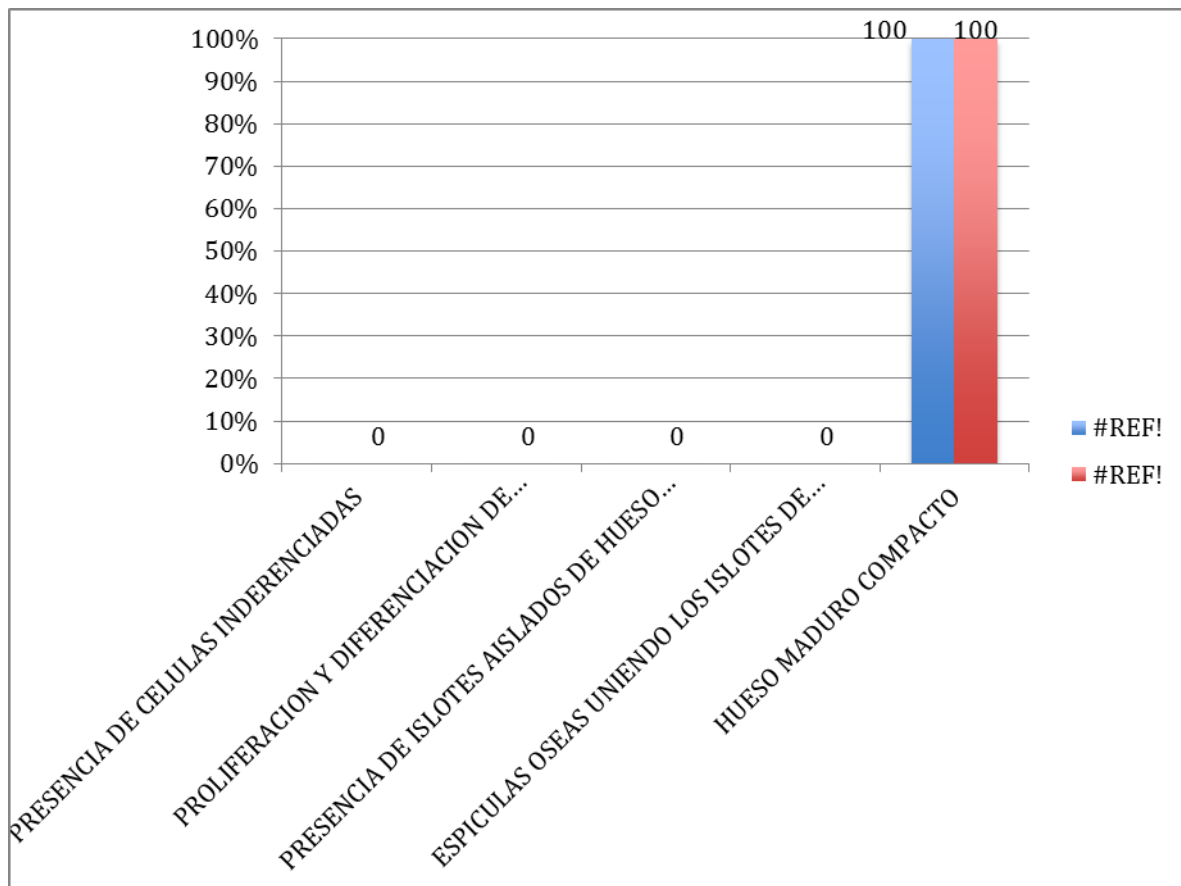


CUADRO N°10: Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

	HUESO PRE QUIRURGICO		GRUPO HUESO Y MEMBRANA		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
PRESENCIA DE CELULAS INDERENCIADAS	0	0%	0	0%	0	0%
PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE CELULAS INDEFERENCIADAS	0	0%	0	0%	0	0%
PRESENCIA DE ISLOTES AISLADOS DE HUESO INMADURO	0	0%	0	0%	0	0%
ESPICULAS OSEAS UNIENDO LOS ISLOTES DE HUESO INMADURO	0	0%	0	0%	0	0%
HUESO MADURO COMPACTO	10	100%	10	100%	20	100%
Total	10	100%	10	100%	20	100%

Según la comparación histológica en cuanto al grado de madurez se encontró que después de 16 semanas de cicatrización tanto en el grupo de estudio y el hueso pre quirúrgico presentan un hueso maduro compacto presentando características histológicas similares.

GRAFICO N°7: Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.



CUADRO N°11: Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

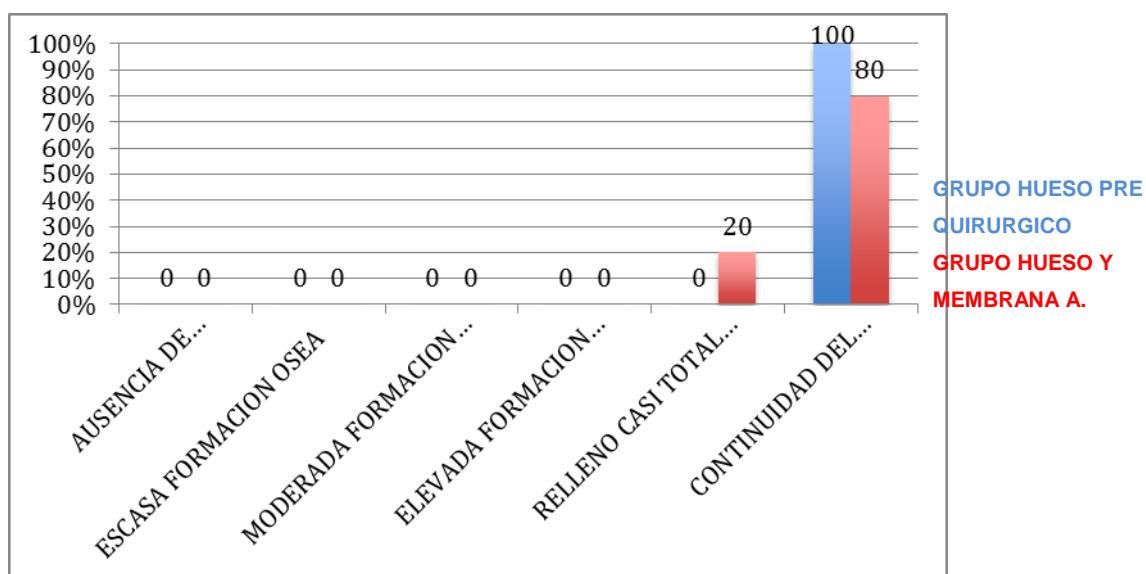
	HUESO PRE QUIRURGICO		GRUPO HUESO Y MEMBRANA		TOTAL		p *
	n	%	n	%	n	%	
AUSENCIA DE FORMACION OSEA EN EL REBORDE DEL DEFECTO	0	0%	0	0%	0	0%	0,136
ESCASA FORMACION OSEA	0	0%	0	0%	0	0%	
MODERADA FORMACION OSEA (2/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	0	0%	0	0%	0	0%	
ELEVADA FORMACION OSEA (1/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	0	0%	0	0%	0	0%	
RELLENO CASI TOTAL DEL DEFECTO (MAYOR DE 2/3)	0	0%	2	20%	2	10%	
CONTINUIDAD DEL DEFECTO CON EL HUESO NORMAL 100%	10	100%	8	80%	18	90%	
TOTAL	10	100%	10	100%	20	100%	

*** Chi cuadrado**

Con respecto a la continuidad defecto hueso en su totalidad se observó que el grupo de estudio obtuvo un 80% de la muestra a comparación del 100% del hueso pre quirúrgico.

Mediante la prueba de chi cuadrado se pudo determinar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. ($p > 0.05$)

GRAFICO N°8: Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.



CUADRO N°12: Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.

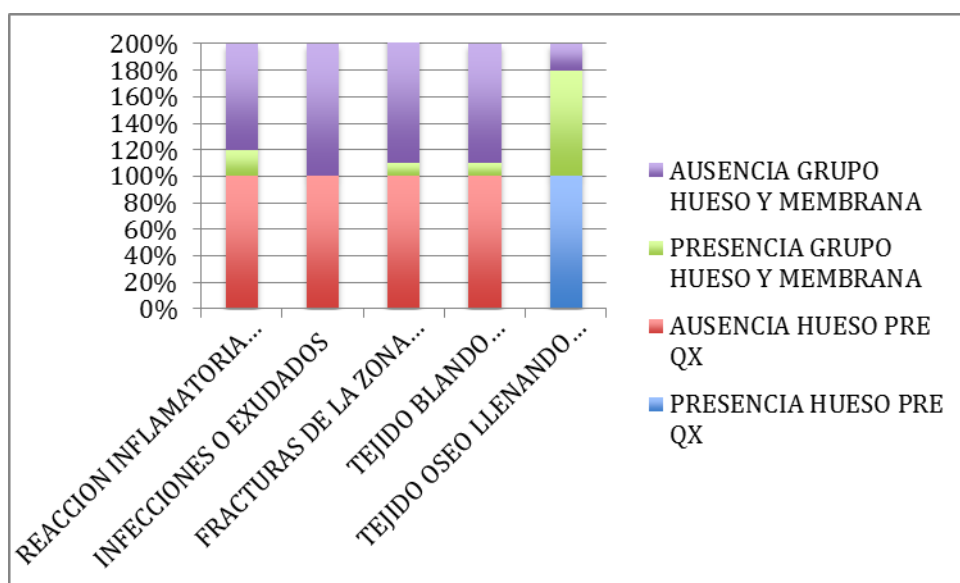
	HUESO PRE QUIRURGICO				GRUPO HUESO Y MEMBRANA				p *
	PRESENCIA		AUSENCIA		PRESENCIA		AUSENCIA		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
REACCION INFLAMATORIA DE NIVEL DE TEJIDOS BLANDOS	0	0%	10	100%	2	20%	8	80%	0,136
INFECCIONES O EXUDADOS	0	0%	10	100%	0	0%	10	100%	
FRACTURAS DE LA ZONA DE TRABAJO	0	0%	10	100%	0	10%	10	100%	0,305
TEJIDO BLANDO LLENANDO EL DEFECTO	0	0%	10	100%	1	10%	9	90%	
TEJIDO OSEO LLENANDO EL DEFECTO	10	100%	0	0%	8	80%	2	20%	0.136

*** Chi cuadrado**

Clínicamente se pudo observar que en el grupo de estudio el 80% de la muestra presento tejido óseo llenando el defecto en comparación al 100% del hueso pre quirúrgico.

Según la prueba estadística de chi cuadrado no existe diferencia estadísticamente significativa entre ambas muestras. ($p > 0.05$)

GRAFICO N°9: Comparación clínica, entre el hueso pre quirúrgico y el efecto del hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada.



CUADRO N°13: Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

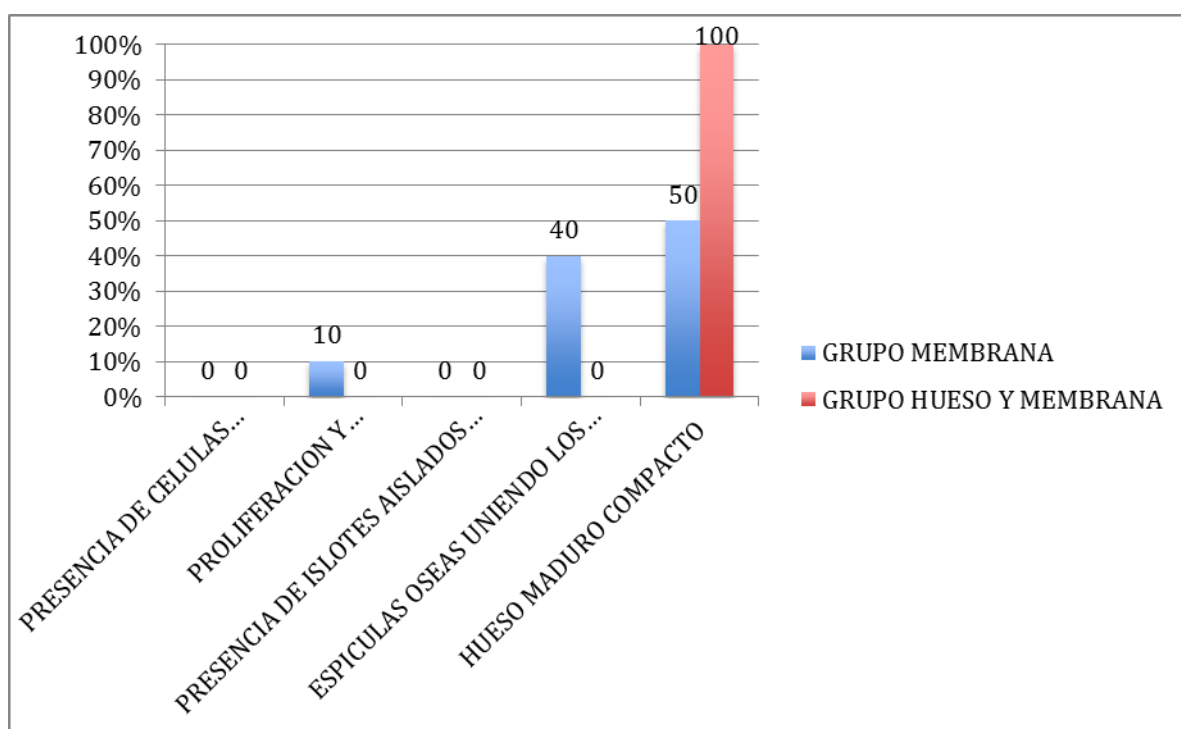
	GRUPO MEMBRANA		GRUPO HUESO Y MEMBRANA		TOTAL		p *
	n	%	n	%	n	%	
PRESENCIA DE CELULAS INDERENCIADAS	0	0%	0	0%	0	0%	0,036
PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE CELULAS INDEFERENCIADAS	1	10%	0	0%	1	5%	
PRESENCIA DE ISLOTES AISLADOS DE HUESO INMADURO	0	0%	0	0%	0	0%	
ESPICULAS OSEAS UNIENDO LOS ISLOTES DE HUESO INMADURO	4	40%	0	0%	4	20%	
HUESO MADURO COMPACTO	5	50%	10	100%	15	75%	
Total	10	100%	10	100%	20	100%	

*** Chi cuadrado**

Se encontró hueso maduro compacto en el 100% de la muestra mientras que en el grupo control se halló solamente en el 50 % después de 16 semanas de cicatrización.

Mediante la prueba de chi cuadrado se determinó que sí existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

GRAFICO N°10: Comparación histológica, según el grado de madurez ósea, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

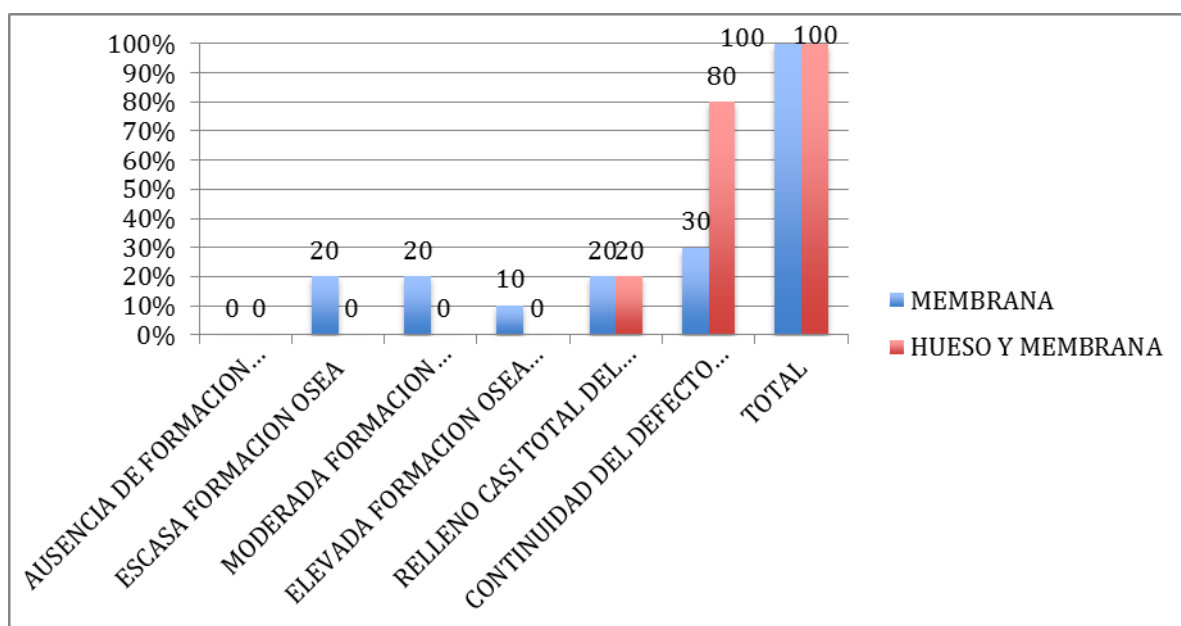


CUADRO N°14: Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

	GRUPO MEMBRANA		GRUPO HUESO Y MEMBRANA		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
AUSENCIA DE FORMACION OSEA EN EL REBORDE DEL DEFECTO	0	0%	0	0%	0	0%
ESCASA FORMACION OSEA	2	20%	0	0%	2	10%
MODERADA FORMACION OSEA (2/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	2	20%	0	0%	2	10%
ELEVADA FORMACION OSEA (1/3 DEL DEFECTO SIN RELLENO)	1	10%	0	0%	1	5%
RELLENO CASI TOTAL DEL DEFECTO (MAYOR DE 2/3)	2	20%	2	20%	4	20%
CONTINUIDAD DEL DEFECTO CON EL HUESO NORMAL 100%	3	30%	8	80%	11	55%
TOTAL	10	100%	10	100%	20	100%

Se pudo observar histológicamente que existe una continuidad defecto hueso completa en el 80% del grupo de estudio en comparación con solo el 30% en el grupo control, determinándose así que si existe diferencias entre ambas muestras.

GRAFICO N°11: Comparación histológica, según la continuidad del defecto con el hueso normal, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.



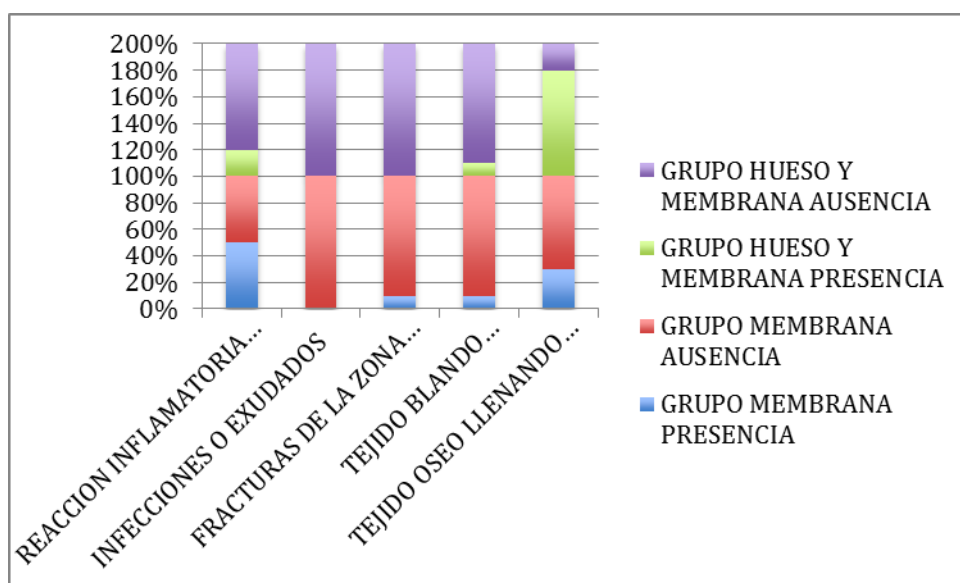
CUADRO N°15: Comparación clínica, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.

	GRUPO MEMBRANA				GRUPO HUESO Y MEMBRANA				p *
	PRESENCIA		AUSENCIA		PRESENCIA		AUSENCIA		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
REACCION INFLAMATORIA DE NIVEL DE TEJIDOS BLANDOS	5	50%	5	50%	2	20%	8	80%	0,160
INFECCIONES O EXUDADOS	0	0%	10	100%	0	0%	10	100%	
FRACTURAS DE LA ZONA DE TRABAJO	1	10%	9	90%	0	0%	10	100%	0,305
TEJIDO BLANDO LLENANDO EL DEFECTO	1	10%	9	90%	1	10%	9	90%	1
TEJIDO OSEO LLENANDO EL DEFECTO	3	30%	7	70%	8	80%	2	20%	0,025

*** Chi cuadrado**

En cuanto a los hallazgos clínicos entre el grupo control y de estudio se pudo observar que el 80% de la muestra presento tejido óseo llenando el defecto mientras que un 30 % se presento en el grupo control, determinándose así mediante la prueba chi cuadrado que si existe diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

GRAFICO N°12: Comparación clínica, entre el uso de hueso humano liofilizado en combinación de la membrana amniótica humana liofilizada y solamente el uso de membrana amniótica humana liofilizada.



CAPITULO V: DISCUSIONES

La mayoría de trabajos en los cuales se utiliza esta membrana amniótica liofilizada se pueden encontrar en el mundo de la oftalmología ^{50,53,59}, ya sea que estén siendo utilizados en intervenciones quirúrgicas de reconstrucciones de la superficie ocular ^{50, 53}, tratamiento del glaucoma primario de angulo abierto o en casos de intervenciones quirúrgicas de Pterigon ocular ⁵⁹ en los cuales se utiliza esta membrana como una barrera para evitar el paso de microorganismos y la vez facilitar la reepitealización de la zona de trabajo.

En todos los casos intervenidos el uso de la membrana amniótica humana liofilizada se mostró como una técnica segura, ya que en ningún caso se encontraron complicaciones intra o post- operatorias, ni se observó un empeoramiento de la zona del trabajo. Así mismo los resultados obtenidos por los estudios se mostraron estables por un periodo amplio de seguimiento. Esto se puede explicar gracias a que ésta membrana amniótica proporciona una membrana basal la cual favorece la migración y la diferenciación celular ^{50, 53} en nuestro estudio podemos decir que favoreció la migración de células multipotenciales que posteriormente se diferenciaron en osteoblastos, reduciendo la inflamación de la zona por debajo de la membrana ⁵⁰ y actuó como sello biológico evitando el pase de diversos tipos de tejidos, especialmente el epitelial y el conjuntivo, permitiendo de esta manera una regeneración ósea completa.

En referencia a trabajos anteriores aplicando los injertos óseos en combinación con membrana amniótica como barrera en el proceso de regeneración ósea, éstos hasta la actualidad no existen o todavía no han sido dados a conocer a la comunidad científica.

Los resultados encontrados por Fernandes y cols en el 2001 con el uso de matriz de dentina desmineralizada autógena osteoinductiva cubiertos con membrana amniótica en el proceso de regeneración ósea en conejos, coinciden con nuestros resultados obtenidos con el uso del hueso humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada en dicho proceso.

Rinastiti, Kesting, Nordback y Zelen coinciden con nuestros resultados al encontrar que la membrana amniótica humana liofilizada induce a una mejor cicatrización en diferentes tratamientos como glaucoma, pie diabético y piel, que en nuestro caso la combinación de membrana amniótica humana liofilizada y hueso humano liofilizado particulado mineralizado tuvo mejores resultados en el proceso de regeneración ósea en tibia de conejos.

En el proceso de regeneración ósea utilizando hueso humano, Orsini halló que el hueso humano es un material que da resultados predecibles en dicho procedimiento, coincidiendo con nuestros resultados obtenidos en la tibia de conejos después de 16 semanas de cicatrización.

Existen 2 trabajos reportados en odontología los cuales nos servirán como referencia y comparar los resultados que hemos obtenido.

Yabar y col, en el año 2010 evaluaron el efecto de la membrana amniótica en el proceso de regeneración ósea guiada tanto clínica e histológicamente. Ellos encontraron clínicamente que el 80% de la muestra presentaba tejido duro llenando el defecto en comparación con nuestros resultados que hueso humano liofilizado en combinación con membrana amniótica se logro obtener 100% de la muestra con tejido óseo llenando el defecto. Histológicamente utilizando el índice de Heiple, encontraron un 87,5% de hueso compacto maduro mientras nosotros encontramos 100%.

Rios y col, en el año 2012 realizaron un estudio en el cual compararon la densidad ósea en defectos óseos en tibias de conejos tratados con membrana amniótica liofilizada y membrana de colágeno, que al ser evaluados a las 5 semanas de cicatrización según tomografía Cone Beam

mostraron niveles similares de densidad ósea con ambas membranas. En nuestro caso utilizamos esta membrana amniótica en combinación con hueso humano liofilizado e irradiado con radiación gamma a 25 Kgray y obtuvimos tanto clínica como histológicamente resultados significativamente diferentes con el solo uso de membrana amniótica.

CAPITULO VI : CONCLUSIONES

- 1) El empleo de la membrana amniótica humana liofilizada en combinación con hueso humano liofilizado particulado mineralizado, clínicamente no produjo ningún tipo de reacción de cuerpo extraño o reacción inflamatoria alguna, tanto en el grupo de estudio como en el grupo control; hubo ausencia absoluta de reacción inflamatoria a las 16 semanas de cicatrización.
- 2) Histológica y clínicamente el uso de hueso humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con membrana amniótica humana liofilizada produjo mejores resultados en lo referente a la presencia de tejido óseo y ausencia de tejido blando llenando la zona de los defectos óseos creados.
- 3) El uso de membrana amniótica humana liofilizada produjo menores resultados clínicos e histológicos comparados con la estructura inicial del hueso receptor.
- 4) El uso de membrana amniótica humana liofilizada en combinación con el hueso humano liofilizado particulado mineralizado produjo resultados clínicos e histológicos similares a la estructura inicial del hueso receptor, tanto en relación al grado de madurez ósea como a la continuidad del defecto óseo – hueso normal.
- 5) El uso de hueso humano liofilizado particulado mineralizado en combinación con la membrana amniótica liofilizada mostró mejores resultados clínicos e histológicos en comparación al grupo control en el cual se colocó solamente membrana amniótica humana liofilizada como barrera.

RECOMENDACIONES

- 1) Realizar mayores estudios con la membrana amniótica liofilizada en combinación con hueso humano liofilizado en lo referente a las diversas propiedades y características de la misma, puesto que estos puntos aún no han sido investigados a cabalidad y sería un gran aporte al ámbito médico – odontológico.
- 2) Realizar estudios in vivo en odontología puesto que ambos productos son ya utilizados en otras áreas médicas.
- 3) Realizar la prueba in vitro del hueso humano liofilizado en combinación con la membrana amniótica humana liofilizada en defectos mayores a 4 mm.

CAPITULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lemons J, Nataliella J. Biomaterials, biocompatibility and peri-implant considerations. Dent Clin North Am 1986; 30(1): 3-23.
2. Hiatt WH, Schallhorn RG, Aaronian AJ. The induction of new bone and cementum formation. IV. Microscopic examination of the periodontium following human bone and marrow allograft, autograft and non-graft periodontal regenerative procedures. J of Periodont 1978; 49:495-512
3. Glowaki J. Tissue response to bone derived implants. In: Habal MB, Reddi HA. Bone grafts & bone substitutes 1 Ed. W. B. Philadelphia: Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc; 1994, p. 84-92.
4. Fürst G, Gruber R, Tangl S, Zecchner W, Haas R, Mailath G, Sanroman F, Watzek G. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorfometric study in minipigs. Clin Oral Implants Res 2003; 14: 500-08.
5. Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. Periodont. 2000 1999;19:74-86
6. Urist MR, Sato K, Brownell AG, Malinin TI, Lietze A, Huo YK, et al. Human bone morphogenetic protein (hBMP). Proc Soc Exp Biol. Med 1983;173:94.
7. Peral Cagigal B, Redondo González Lm, Verrier Hernández A, Serrat Soto A, Torres Nieto Ma, Vaquero Puerta C. Estudio experimental sobre la regeneración ósea mandibular de la rata con diferentes biomateriales. Rev Esp Cirug Oral y Max 2008; 30 (1): 15 – 24

8. Cohen E. Aumento de la cresta. Atlas de cirugía Periodontal cosmética y reconstructiva. 3ra edición. Boston, Massachusetts, EUA: Amolca; 2009 p. 327 - 345

9. Clinical and Histologic Evaluation of a Mineralized Block Allograft: Results from the Developmental Period (2001–2004) Int J Periodontics Restorative Dent 2006;26:321–327

10. Robert H. Lyford, Michael P. Mills, MS Charles I. Knapp,E. Todd Scheyer, James T. Mellonig, Clinical Evaluation of Freeze-Dried Block Allografts for Alveolar Ridge Augmentation: A Case Series. (Int J Periodontics Restorative Dent 2003;23:417–425

11. Keith J.. Localized Ridge Augmentation With a Block Allograft Followed by Secondary Implant Placement: A Case Report. Int J Periodont Rest Dent, 24:11-17, 2004.

12. : Thiago Morelli, Rodrigo Neiva, Hom-Lay Wang. Case Report Human Histology of Allogeneic Block Grafts for Alveolar Ridge Augmentation. Int J Periodontics Restorative Dent 2009; 29:649–656.

13. Sawatari Y., Robert N. Santoro J, Cohen J, Bejarano P, Malinin T. Use of Cortico cancellous Allogeneic Bone Blocks for Augmentation of Alveolar Bone Defects Michael Int J Maxillofac implantes orales 2010; 25:153-162

14. Wallace S, Gellin R. Clinical Evaluation of a Cancellous Block Allograft for Ridge Augmentation and Implant Placement: A Case Report. Implant Dent 2008;17:151–158

15. Su-Gwan K,Jin-Sung P, Sung-Chul L.Placement of Implant After Bone Graft Using J Block Allograft Implant Dent 2010;19:21–28

16. Walker T, Johnny B. Localized Ridge Augmentation Using a Block Allograft with Subsequent Implant Placement: A Case Series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:509–515
17. Fernandes M,Mário, Da Silva J, De Oliveira T.,Catanzaro S. Histologic Evaluation of the Osteoinductive Property of Autogenous Demineralized Dentin Matrix on Surgical Bone Defects in Rabbit Skulls Using Human Amniotic Membrane for Guided Bone Regeneration.*Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16:563–571
18. Rinastiti, M., Harijadi S., Sosroseno, W. La evaluación histológica de la cicatrización de heridas gingivales en conejos trasplantados con membrana amniótica humana. *Rev. Int. de Cirugía Oral y Maxilofacial*; 2006, 35 (3): 247-251,
19. Kesting, M., Loeffelbein D., Classen M., Slotta J., Hasler R., Jacobsen F., Kreutzer K. Reparación de las fístulas oronasales con membrana amniótica en cerdos enanos. *British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*; Mar2010, 48 (2):131-135.
20. LYNCH and Genco. Basic principles of tissue engineering. Quint Publishing Co. 1999: 3- 15.
21. LYNCH and GENCO. Biology of bone healing: Its impact on clinical therapy. Quint. Publishing Co. 1999: 17 – 50.
22. LYNCH and GENCO. Periodontal and Bone Regeneration in oral cavity. Quint. Publishing Co. 1999: 17 – 50.
23. Riedenstein A. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol* 1976; 47 : 327-55.
24. Canfield A, Doherty M, Ashton B. Osteogenic potential of vascular pericytes. *JE ed. Bone Engineering* 2000. 5: 143-51.

25. Civitelli R, Beyer E, Warlow P, Robertson A, Geist S, Steinberg T. Connexin. Mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cells networks. *J Clin Invest* 1993; 91:88-96.
26. Simonet W, Lacey D, Dunstan C, Kelley M, Chang M, Luethy R Et AL. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density 1997; 89:09-19.
27. Wilson TG, Komman KS. Fundamentals of periodontics. Singapore: Quint. Books, 1996: 405-408.
28. Becker W, Burton E, Caffesse R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol* 1994; 65: 1128-1133.
29. Brunsvold M, Mellonig J. Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodont.* 2000; 1993: 80-91.
30. Barrios G. Odontología, su fundamento biológico. Studio Books ediciones. Tomo IV: 1988; 879- 899.
31. Rummelhart JM, Mellonig JT, Gray JL, Towle HJ. A comparison of freeze-dried bone allograft and demineralized freeze-dried bone allograft in human periodontal osseous defect. *J Periodontol* 1989; Dec: 655-663.
32. Barnett JD, Mellonig JT, Gray JL, Towle HJ. Comparison of freeze-dried bone allograft and porous hydroxylapatite in human periodontal defects. *J Periodontol* 1989 May: 231-237.
33. Yukna RA. Clinical evaluation of coralline calcium carbonate as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. **J Periodontol** 1994; 65: 177-185.

34. Bower J, Mellonig J, Gray J, Towle H. Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hydroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989; Dec: 647-654.

35. Sonis R, Williams R, Jeffcoat M, Black R, Shklar G. Healing of spontaneous periodontal defects in dogs treated with xenogenic demineralized bone. *J Periodontol* 1985; Aug: 470-479.

36. West TL, Brustein DD. Freeze-dried bone and coralline implants compared in the dog. *J Periodontol* 1985; Jun: 348-351.

37. Yukna R. HTR polymer grafts in human periodontal osseous defects. I. Six-month clinical results. *J Periodontol* 1990; Oct: 633-642.

38. Yukna R. Clinical evaluation of HTR polymer bone replacement grafts in human mandibular class II molar furcations. *J Periodontol* 1994; Apr: 342-349.

39. Pagliai A. Regeneracion osea guiada. Diplôme D'Université D'Implantologie Orale et Maxillo-Faciale 2000 – 2001; 2: 22-31

40. Majluf i, harán j, moreno g. Regeneración ósea guiada utilizando membrana de óxido de aluminio en combinación con implantes oseointegrados. *Rev Esp de Cirug Oral y Max* 2007; 29(4) 45 – 57.

41. Zermeño Ibarra J, Cepeda Bravo J. Comparación entre membranas biodegradables y no degradables en la terapia de regeneración tisular guiada, *Revista ADM* 1999; 56(1): 39-43.

42. La Rosa Garza M De, Cepeda J. Regeneración ósea guiada de cara al año 2000, consideraciones clínicas y biológica. *Revista ADM* 2000. 57(4): 147 – 153.

43. Ortiz b. Y col. Colonización bacteriana de membranas de PTFE-e en regeneración tisular guiada, Revista ADM 2006; 63(4):135-141
44. Cross Jc. How to make a placenta: mechanisms of trophoblast cell differentiation in mice--a review. J. Periodontology 2005; 26:3-9.
45. Leonardo j. De luca (Laboratorios Burnet). Aborto bovino. Boletín informativo. 2008. p. 12-18.
46. Estructura y fisiología de la placenta. Boletín de la Escuela Universitaria Ingeniería Técnica Agrícola 2007. p. 24-32
47. Merkis, c. I.; cristofolini, a. L.; franchino, m. A.; moschetti, e.; konkurat, m. A Relación entre Área Total y Área Epitelial de vellosidades placentarias porcinas en diferentes estadios gestacionales. In Vet 2005; 7: 15-21.
48. James c. Cross, lynn anson-cartwright and ian c. Scott. Transcription Factors Underlying the Development and Endocrine Functions of the Placenta. Recent Progress in Hormone Research 2002 ; 57:221-234
49. Fogel S, Boris E, Revista de la Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Medicina, Escuela de Medicina Humana. 2008.p. 1-8.
50. Aguirre p., eu. Ogrodnik m. T., m.v. Zarate h., ing. Silva s., dr. Azocar m., dr. Hitschfeld m. Use of amniotic membrane in ophthalmology surgery, first cases. Comisión Chilena de Energía Nuclear 2007;26: 1-8
51. Tseng S, Li D. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. J Cell Physiol 1999 Jun; 179(3): 325-335.
52. Kurpakus M, Daneshvar C, Davenport j, Kim A. Human.Corneal epithelial cell adhesion to laminins. Curr Eye Res 1999 Aug; 19(2): 106-114.

53. Rodríguez Martín J, De Bonis Redondo E, Rodríguez Santana A, González De La Rosa Ma. Transplante de membrana amniótica en patología de la superficie ocular. Hospital Clínico de San Carlos de Madrid, Revision de Casos. 2004.
54. Wang M, Khan Am, Garey Ce. Deshidratación: secado y liofilizacion. Rev de Tecnologías de alimentos. 2007. p. 22-23
55. Peral B, redondo L, Verrier A. Estudio experimental sobre la regeneración ósea mandibular de la rata con diferentes biomateriales. Rev Esp Cirug Oral y Max 2008; 30 (1): 15 - 24
56. Taguchi A., Tanimoto K., Suei Y. Observer agreement in the assessment of mandibular trabecular bone pattern from panoramic radiographs. Dentomaxillofacial Radiology 1997; 26: 90-94
57. Eill Sr, Cobb C, Rapley J, Glaros A, Spencer P., In vivo comparison of synthetic osseous graft materials. A preliminary study. J Clin Periodontol 1999; 26: 239-245.
58. Nikolaos D et al. Long-term stability of autogenous bone grafts following combined application with guided bone regeneration. Clin. Oral Impl. Res. 2005; 16: 133–139
59. Stangogiannis-druya, Martínez M, Paz I., Márquez K. Trasplante de membrana amniótica o Auto injerto conjuntival en Pterigión Nasal Recidivantes. Rev. 2004 Oftalmol. Venez. v.60 n.4.
60. Von Arx T, Buser D. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. Clin. Oral Impl. Res. 2006; 17: 359–366121

61. Ha"mmerle c, jung r, yaman d, lang p. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. Clin. Oral Impl. Res. 2008; 19: 19–25
62. Yabar. J. Efecto de la membrana amni"tica liofilizada como barrera en el proceso de regeneraci"n "sea en tibia de conejo. Tesis para obtener el t"tulo d cirujano dentista UNMSM 2010.

CAPITULO VIII. ANEXOS

ANEXO N°1

<i>EFFECTO HISTOPATOLÓGICO</i> <i>A las 16 semanas de cicatrización</i>		H 1		H 2	
		ÁREA DE CONTROL		ÁREA DE ESTUDIO	
		PRESENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	AUSENCIA
GRADO DE MAUREZ OSEA	<i>Células indiferenciadas</i>				
	<i>Proliferación y diferenciación de células indiferenciadas</i>				
	<i>Islotes aislados de hueso inmaduro</i>				
	<i>Espículas óseas uniendo los islotes de hueso inmaduro</i>				
	<i>Hueso maduro compacto</i>				

CONTINUIDAD DEL DEFECTO – HUESO NORMAL	<i>Ausencia de formación ósea en el reborde del defecto.</i>				
	<i>Escasa formación ósea.</i>				
	<i>Moderada formación ósea (2/3 del defecto sin relleno)</i>				
	<i>Elevada formación ósea (1/3 del defecto sin relleno)</i>				
	<i>Relleno casi total del defecto (mayor 2/3)</i>				
	<i>Continuidad del defecto con el hueso normal 100%.</i>				

ANEXO N°2

<i>EFEECTO CLÍNICO</i> <i>A las 16 semanas de cicatrización</i>	ÁREA DE CONTROL NEGATIVO		ÁREA DE ESTUDIO	
	PRESENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	AUSENCIA
REACCIÓN INFLAMATORIA A NIVEL DE TEJIDOS BLANDOS				
INFECCIONES O EXUDADOS				
FRACTURA DE LA ZONA DE TRABAJO				
TEJIDO BLANDO LLENANDO EL DEFECTO				
TEJIDO OSEO LLENANDO EL DEFECTO				

Matriz de consistencia: (ANEXO N°3)

VARIABLE	CONCEPTUALIZACION	DIMENSION SUB VARIABLE	DEFINICION	SUB DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA	CATEGORIA
VARIABLE INDEPENDIENTE		----	----	-----			
Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada.	Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada son biomateriales de composición genética diferente al receptor, utilizados para la estimulación de formación de hueso nuevo en áreas donde existían deficiencias óseas.				Empleo del Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada.	NOMINAL	SI (Injerto óseo + membrana Amniótica) NO (Solo membrana Amniótica)

VARIABLE DEPENDIENTE							
Regeneración ósea.	Capacidad del Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada de crear hueso sano y suficiente, en los procesos alveolares de los maxilares, para cubrir defectos óseos periodontales o para tener procesos alveolares adecuados	Efecto histológico del Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada en el proceso de regeneración ósea de los defectos producidos en la tibia de los conejos después 16 semanas de cicatrización	Efecto encontrado a nivel microscópico en relación al proceso de regeneración ósea después de 16 semanas de cicatrización	Grado de madurez ósea Continuidad del defecto – hueso normal	<i>Modificación del Método utilizado por Heiple.⁵⁵</i>	ordinal	<p>Presencia de células indiferenciadas</p> <p>Proliferación y diferenciación de células indiferenciadas</p> <p>Presencia de islotes aislados de hueso inmaduro</p> <p>Espículas óseas uniendo los islotes de hueso inmaduro</p> <p>Hueso maduro compacto</p> <p><i>Ausencia de formación ósea en el reborde del defecto.</i></p> <p><i>Escasa formación ósea.</i></p> <p><i>Moderada formación ósea (2/3 del defecto sin relleno)</i></p> <p><i>Elevada formación ósea (1/3 del defecto sin relleno)</i></p> <p><i>Relleno casi total del defecto (mayor 2/3)</i></p> <p><i>Continuidad del defecto con el hueso normal 100%.</i></p> <p>Presencia de reacción inflamatoria</p>

		<p>Efecto clínico del Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada en el proceso de regeneración ósea de los defectos producidos en la tibia de los conejos después 16 semanas de cicatrización</p>	<p>Valoración descriptiva de la zona donde se coloco el Injerto óseo humano liofilizado particulado y membrana amniótica humana liofilizada, después de 16 semanas.</p>	<p>Reacción inflamatoria de nivel de tejidos blandos</p> <p>Infecciones o exudados</p> <p>Fracturas de la zona de trabajo</p> <p>Tejido Blando llenando el defecto</p> <p>Tejido óseo llenando el defecto</p>	<p><i>Modificación del Método utilizado por Heiple.⁵⁵</i></p>	<p>NOMINAL</p>	<p>Ausencia de reacción inflamatoria</p> <p>Presencia de proceso infeccioso o exudados</p> <p>Ausencia de proceso infeccioso o exudado</p> <p>Presencia de fracturas</p> <p>Ausencia de fracturas</p> <p>Presencia de tejidos blandos llenando el defecto</p> <p>Ausencia de tejidos blandos llenando el defecto</p> <p>Presencia de tejido OSEO llenando el defecto</p> <p>Ausencia de tejido OSEO llenando el defecto</p>
--	--	--	---	---	--	----------------	---

ANEXO N°4



Caracterización de una biohidroxiapatita tratada con radiación gamma para aplicaciones biomédicas

Emma Castro^{1,*}, Alcides López^{2,3}, Bertha Ramos⁴, Johnny Vargas¹, Mónica Vivanco¹,
Paula Olivera²

¹ Instituto Peruano de Energía Nuclear, Dirección de Servicios, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

² Instituto Peruano de Energía Nuclear, Dirección de Investigación y Desarrollo, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

³ Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ciencias, Av. Túpac Amaru 210 Lima 25, Perú

⁴ Instituto Peruano de Energía Nuclear, Planta de Producción de Radioisótopos Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

Resumen

Debido a su excelente biocompatibilidad, bioactividad y osteoconducción, la hidroxiapatita es un material que se utiliza ampliamente en cirugía ortopédica, traumatología, odontología y cirugía maxilo-facial. El presente trabajo tiene como propósito caracterizar una biohidroxiapatita (BHA) esterilizada por radiación gamma y tratada a las dosis de 0, 25, 50, 100, 200 y 500 kGy, utilizando técnicas gravimétricas, espectroscopia FTIR, difracción de rayos X, fluorescencia de rayos X, microscopía electrónica de barrido y pruebas organolépticas. Se realizaron pruebas dosimétricas para la irradiación del producto y la esterilidad de la BHA se comprobó mediante pruebas microbiológicas. Los resultados de las pruebas de caracterización concluyen que la BHA irradiada a 25 kGy es apropiada para ser utilizada en aplicaciones médicas.

Abstract

Hydroxyapatite is a material that is used for orthopaedic surgery and traumatology as well as for odontology and maxilo-facial surgery due to its biocompatibility, bioactivity and osteoconduction. To be used in patients, hydroxyapatite must be sterile and thus, previously should undergo an sterilization process. This work aims to characterize a biohydroxyapatite (BHA) sterilized by gamma radiation, treated at doses of 25, 50, 100, 200 y 500 kGy, using gravimetric techniques, FT-IR spectroscopy, X-ray diffraction and fluorescence, scanning electron microscopy as well as organoleptic tests. For product irradiation, dosimetric tests were performed and the sterility of the product was verified through microbiological tests. Results of characterization tests concluded that the BHA irradiated at 25 kGy is appropriate for medical applications.

1. Introducción

La biohidroxiapatita (BHA) es el principal componente inorgánico de los huesos, encontrándose también en los dientes. Su fórmula química es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, su origen puede ser natural en forma de mineral: humano, bovino, equino, coralino, ficógeno, y en forma sintética puede ser hidroxiapatita pura (HA): cerámico o no cerámico [1]. La BHA y la HA han sido muy estudiadas y debido a sus propiedades de biocompatibilidad son utilizadas en el campo de la biomedicina, principalmente como sustituto óseo.

En la actualidad, para la reparación ósea, los injertos de hueso autólogo son considerados los "estándares de oro" de los sustitutos óseos; sin embargo, su limitada

disponibilidad y morbilidad asociada a la procuración del hueso de sitios donantes han orientado a la búsqueda de materiales alternativos [2]. Así, la BHA es uno de los biocerámicos más utilizados debido a sus excelentes propiedades biocompatibles, antiinflamatorias, osteoconductoras, promotoras del crecimiento de hueso nuevo, capacidad de reabsorción por el cuerpo [3] y porque además puede ser obtenida de diferentes fuentes.

La BHA se utiliza en cirugía máxilo-facial, periodontología, ortopedia y traumatología; para el relleno de vacíos óseos creados por quistes, tumores y traumas. De igual manera, se utiliza en intervenciones quirúrgicas como: aumento de rebordes alveolares atroficos,

* Correspondencia autor: ecastro@ipen.gob.pe

ANEXO N°5

CMVID LIMA	COLEGIO MEDICO VETERINARIO DEL PERU Pedro Irigoyen N° 208 - Santa Rita Surco - Lima - Perú	CERTIFICADO DE SALUD N° 170806
<p>El Médico Veterinario, que suscribe: C E R T I F I C A, haber examinado clínicamente al animal que a continuación se reseña:</p> <p>Especie..... CONECIOS Raza..... NOVA ZELANDA Sexo..... MACHOS - SIEMPRE Edad..... (6-9 meses)</p> <p>Nombre..... (O CONECIOS) Señas particulares (color, tatuaje, etc)..... BLANCOS</p> <p>Habiéndose comprobado que para el momento del exámen, el animal en mención se encontró libre de enfermedades infecto-contagiosas y parasitarias transmisibles a hombres y a otros.</p> <p>Se expide el presente a solicitud de..... FRANK MICHAEL PAREDES DOMESTO</p> <p>Domiciliado en..... Mz. C. Lt. 2 San Diego - SUR para los fines que crea conveniente,</p> <p>En..... LIMA..... a los..... 08 días de..... Febrero..... del..... 2013</p> <p>Observaciones :</p>		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>MIGUEL ANGEL CABRERA PÉREZ Calle Huasta 4964 - Los Olivos, CHUP 6620.</p> <p style="text-align: right; font-size: small;"> MV. Miguel Angel Cabrera Pérez MEDICO VETERINARIO C.M.V.P. 6620 </p> </div>		
<p>..... Nombres y Apellidos-Dirección y N° C.M.V.P. del Médico Veterinario responsable </p>		<p>..... Médico Veterinario Firma </p>
<p>Nota: Este Certificado tiene una validez de 15 días</p>		

COLEGIO MEDICO VETERINARIO DEL PERU

Nº 074283

Pedro Irigoyen N° 208 - Santa Rita
Surco - Lima - Perú

**CMVD
LIMA**

AUTORIZACION PARA INTERVENCIONES QUIRURGICAS

Yo FRAUK MICHAEL PAREDES NORBERTO autorizo que se intervenga quirúrgicamente a mi 10 CONUTIOS, RAZA NOVA ZELANDA. (5 HACHOS - 5 HERIDAS).
Asumiendo que en toda intervención quirúrgica existe un riesgo imprevisible y que dicho profesional es un Especialista en la materia y confiando en su idoneidad, me comprometo a no entablar querrela judicial ni reclamo alguno al médico veterinario Dr.: MIGUEL ANGEL CABRERA PEREZ en caso ocurrirle algún

accidente durante la intervención.

Lima, 15 de FEBRERO del 2013.

Miguel
MV. Miguel Angel Cabrera Perez
MEDICO VETERINARIO
C.M.V.P. 6820

Nombres y Apellidos-Dirección y N° C.M.V.P.
del Médico Veterinario responsable

Firma del Interesado

D.N.I. : 43337586

COLEGIO MEDICO VETERINARIO DEL PERU N° 0038641
 Pedro Irigoyen 208 - Santa Rita Surco - Lima - Perú

**CMVD
LIMA**

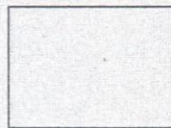
AUTORIZACION DE EUTANASIA

Yo, FRANK MICHAEL PAREDES NOBERTO con D.N.I. N° 43337586
 domiciliado en : MZ C Lt. 2 San Diego
 Distrito de : SAN MARTIN DE PORRES con Teléfono N° 997053320

dueño de la siguiente mascota :

Nombre : 10 CONEJOS Especie : CONEJO Raza : NOVA ZELANDA
 Sexo : 5 Machos - 5 hembras Edad : (6m - 9 meses) Color : BLANCO

En pleno uso de mis facultades autorizo al Dr. MIGUEL ANGEL CABRERA PERAZA MEDICO VETERINARIO
 Para que le aplique la eutanasia y por tanto asumo las consecuencias legales que pudiera implicar la
 autorización dada, deslindando cualquier responsabilidad al Médico Veterinario señalado.



*Huella Digital

Lima, 07 de JUNIO del 2013.

PROPIETARIO (A)

D.N.I. N° 43337586



CENTRO MEDICO VETERINARIO "CHELSEA VET"

Av. Universitaria cdra. 47 s/n MERPROLIMA Puesto 39 - Los Olivos

Telf. 7221262 - 997251797 - RPM #0068646

micape17@yahoo.com

INFORME MEDICO VETERINARIO

- Después del periodo de aclimatación los animales fueron preparados para la implantación quirúrgica del material en estudio. Se retiró el agua y la comida 20 horas antes de la intervención. El procedimiento anestésico fue realizado mediante la administración de ketamina (35 – 50 mg/Kg), más xilacina "xylazine Hydrochloride" (10 – 15 mg/Kg), el nivel de anestesia fue mantenido con la administración de ketamina por vía intramuscular. El mantenimiento de la anestesia fue controlado mediante la pérdida del reflejo pupilar del ojo y la relajación del músculo esquelético de la zona quirúrgica. . El tercio proximal del fémur hasta el tercio distal de la tibia fueron depilados.
- La anestesia disociativa se complementó con la técnica epidural lumbo-sacra mediante lidocaína al 2% con epinefrina a dosis de 1 mL/4 kg. Los animales fueron posicionados en decúbito lateral izquierdo y preparados de manera aséptica para cirugía. El abordaje quirúrgico se basó en la técnica descrita por Piermattei para perros y gatos y constó de los siguientes tiempos:
 1. Incisión cutánea parapatelar lateral del tercio distal del fémur hasta la diáfisis proximal de la tibia.
 2. Incisión del tejido subcutáneo y fascia lata en la misma línea que la incisión cutánea.
 3. Desbridamiento de la musculatura cráneo-lateral de la tibia y separación caudal de la misma.
 4. Incisión del periostio en la superficie lateral de la porción proximal de la tibia extendiéndose hasta el final de la cresta tibial.

Posteriormente se realizó en todos los animales un defecto circular de profundidad suficiente para alcanzar el canal medular en la parte central de la faceta lateral proximal de la tibia, a 2 cm de la meseta tibial. El defecto de

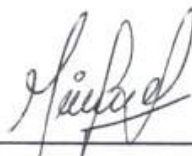
aproximadamente 4 mm de diámetro, se consiguió con el auxilio de una broca de igual diámetro para implantes dentales a una velocidad de 800 rpm facilitado por un motor marca DRILLER, irrigando el fresado con suero helado.

En cada animal se trabajó la tibia derecha haciendo 2 perforaciones las cuales fueron una de control, cubriéndola solamente con membrana amniótica liofilizada y la otra experimental, colocando en esta hueso humano liofilizado cubierta con la membrana amniótica liofilizada y seguidamente los tejidos separados fueron suturados.

En el posoperatorio los animales recibieron morfina 3 mg/kg/12h/2días/sc y 40.000 UI/kg/24h/2días/im de penicilina sódica y procaínica. Las heridas fueron curadas con alcohol iodado por 10 días.

Yo, Miguel Ángel Cabrera Pérez médico Veterinario, con número de colegiatura 6620, doy fe del correcto manejo pre, intra y pos operatorio de los animales en experimentación. Dichos procedimientos fueron realizados en mi clínica veterinaria ubicada en Av. Universitaria cdra. 47 s/n MERPROLIMA Puesto 39 - Los Olivos; en conjunto con los cirujanos dentistas Frank Michael Paredes Nomberto con COP 27245 y Sixto Grados Pomarino con COP 04149.

Expidió el siguiente informe para los fines que se crean convenientes.


M.V. Miguel Ángel Cabrera Pérez
MEDICO VETERINARIO
C.M.V.P. 6620

Miguel Ángel Cabrera Pérez
Médico Veterinario
CMVP 6620

FIGURAS



Figura 7. La población consistió en 10 conejos raza “Nueva Zelanda” de 3.5 a 4 kg de peso, los cuales fueron aislados individualmente para un mejor manejo y control



Figura 8. Los materiales de estudio fueron el hueso humano liofilizado y la Membrana amniótica liofilizada, los cuales fueron donados por el IPEN.



Figura 9. Ketamina 100 mg/ml y Dromixyl 2%



Figura 10. Aplicación del sedante y analgésico via Intramuscular



Figura 11. Depilación del área de trabajo.



Figura 12. Incisión de 7 centímetros a nivel de la cara interna de la tibia, después de decolar todos los planos correspondientes nos queda el tejido óseo en el que vamos a trabajar.



Figura 13. colocación del hueso humano liofilizado, el cual servirá de osteoconductor para la regeneración ósea



Figura 14. Colocación de la membrana amniótica liofilizada como barrera en el defecto producido en las tibia del conejo.



Figura 15. Entablillado de la zona operada para evitar posibles fracturas pos operatorias

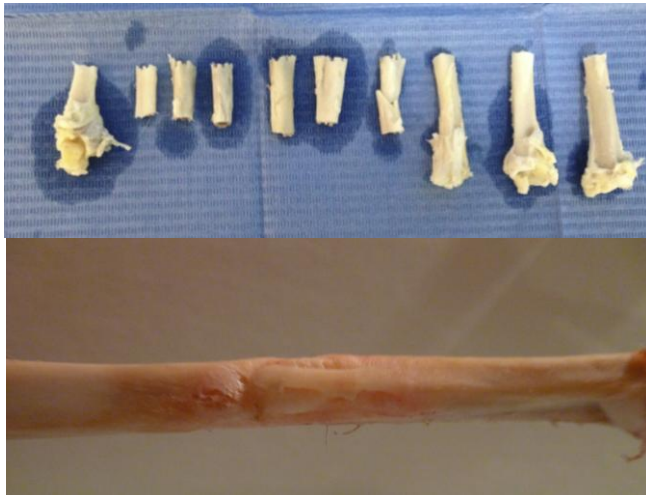


Figura 16. Imagen clínica de las áreas de estudio después de 16 semanas de cicatrización.

56



Figura 17. Las muestras fueron fijadas en formol al 10 %

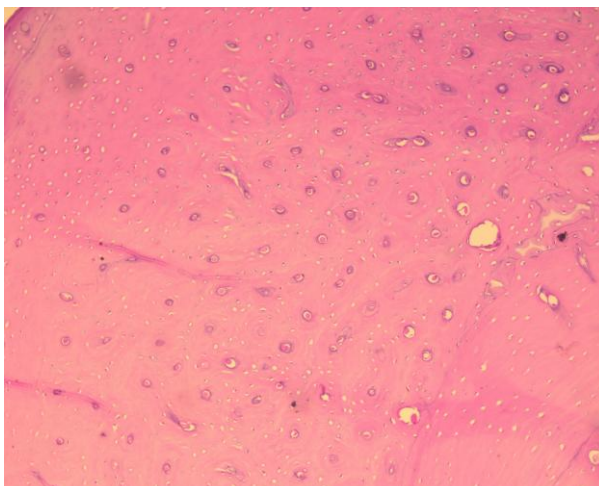


Figura 18. H-E 40x

Imagen histológica del Grupo de estudio, observándose osteocitos en un hueso maduro compacto.

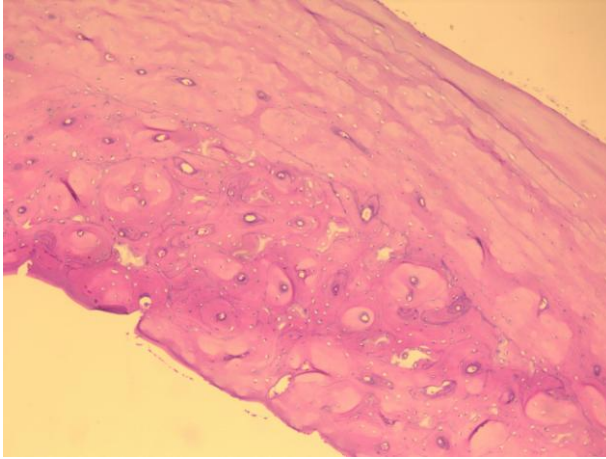


Figura 19. H-E 200x

Imagen histológica del grupo de estudio mostrándose espacios medulares y hueso maduro compacto